

THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

MARC MEITÈS

1^{re} THÈSE — ACTION DE L'EAU ET DU BENZÈNE SUR
LA STRUCTURE DE LA CELLULE VÉGÉ-
TALE (CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PHYSIO-
LOGIQUE ET CHIMIQUE DE LA CELLULE).

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

soutenues le 13 Juin 1944 devant la Commission d'Examen

JURY

MM. EMBERGER, *Président*

DENIZOT

Mlle TUZET

M. TURCHINI, *Professeur à la Faculté de Médecine*

1944

IMPRIMERIE ARISTIDE QUILLET
MONTPELLIER

THÈSES
A LA FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

ACTION DE L'EAU ET DU BENZÈNE
SUR LA
STRUCTURE DE LA CELLULE VÉGÉTALE

(Contribution à l'étude physiologique et chimique de la cellule)

THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

MARC MEITÈS

1^{re} **THÈSE** — ACTION DE L'EAU ET DU BENZÈNE SUR
LA STRUCTURE DE LA CELLULE VÉGÉ-
TALE (CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PHYSIO-
LOGIQUE ET CHIMIQUE DE LA CELLULE).

2^e **THÈSE** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

soutenues le 13 Juin 1944 devant la Commission d'Examen

JURY

MM. EMBERGER, *Président*
DENIZOT

Mlle TUZET

M. TURCHINI, *Professeur à la Faculté de Médecine*

1944

IMPRIMERIE ARISTIDE QUILLET
MONTPELLIER

FACULTÉ DES SCIENCES

DE

L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

ANNEE 1922 MM.

Doyen P. MATHIAS, Professeur de Zoologie et
Biologie générale

Professeurs honoraires { E. FABRY, E. BATAILLON, R. JACQUES,
J. PAVILLARD, J. CABANNES et
E. CHATTON

Maîtres de conférences honoraires F. MOURGUES et L. MAURY

Professeurs { G. REBOUL, Physique
E. TURRIÈRE, Mécanique rationnelle
P. HUMBERT, Mathématiques pures
L. GAY, Chimie
J. SOULA, Mathématiques
E. CARRIÈRE, Chimie
L. EMBERGER, Botanique
Ch. BOUHET, Physique
M. MOUSSERON, Chimie
P. CHATELAIN, Minéralogie
G. DENIZOT, Géologie

Maîtres de Conférences { O. TUZET (Mlle), Zoologie
P. RÉMY, Chimie
G. MALECOT, Mathématiques
T. TROCHAIN, Botanique coloniale

Secrétaire M. BOSC

Secrétaire honoraire L. DUBOIS



A NOTRE MAÎTRE
M. LE PROFESSEUR JEAN TURCHINI

ACTION DE L'EAU ET DU BENZÈNE

SUR LA

STRUCTURE DE LA CELLULE VÉGÉTALE

(Contribution à l'étude physiologique et chimique
de la cellule)

SOMMAIRE

	<i>Pages</i>
Introduction	I

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES CYTO-PHYSIOLOGIQUES

Chapitre Premier. — Technique	5
Matériel d'étude. — Cytologie cytoplasmique et mitochondriale.	
— Cytologie nucléaire.	
Chapitre Deuxième. — Action de l'eau sur les extrémités radiculaires de <i>Lupinus albus</i> L.	14
§ 1. — ACTION DE L'EAU SUR LA CELLULE VIVANTE	15
Pouvoir perméabilisant du milieu aqueux. —	
Action (de courte durée) du milieu hypotonique. —	
Action (de longue durée) du milieu hypotonique.	
§ 2. — ACTION DE L'EAU SUR LA CELLULE FORMOLÉE	17
Chapitre Troisième. — Action du benzène sur les extrémités radiculaires de <i>Lupinus albus</i> L. et d'<i>Allium sativum</i> L. ..	19
§ 1. — RAPPEL DE QUELQUES PROPRIÉTÉS DU BENZÈNE. — CHOIX DE LA FORME D'UTILISATION	19
§ 2. — OBSERVATIONS EFFECTUÉES SUR LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES DE <i>LUPINUS ALBUS</i> L.	20
<i>Action du benzène sur la cellule vivante</i>	
Détail d'une expérience	
Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée	
	21

	<i>Pages</i>
Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée dédoublée	26
Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée diluée au quart	35
<i>Action du benzène sur la cellule formolée. Recherches sur la stabilité des complexes lipido-protidiques du chondriome de Lupinus albus L.</i>	38
Position du problème. — Recherches personnelles; application cytologique des données de MACHEBŒUF. — Applications pratiques des résultats précédents; perfectionnement de la technique mitochondriale de Regaud.	
§ 3. — OBSERVATIONS EFFECTUÉES SUR LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES D'ALLIUM SATIVUM L.	54
<i>Action du benzène sur la cellule vivante</i>	54
Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée	55
Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée dédoublée	59
Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée diluée au quart	66
<i>Action du benzène sur la cellule formolée</i>	69
Chapitre Quatrième. — Observations et colorations vitales....	
§ 1. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR UNE SPIROGYRE	74
§ 2. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR ELODEA CANADENSIS RICH... ..	75
§ 3. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR LES ÉCAILLES BULBAIRES D'ALLIUM CEPA L.	82

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES MORPHOLOGIQUES

Observations préliminaires	87
Action du Benzène sur la Morphologie et le Développement de <i>Lupinus albus</i> L.	
§ 1. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE	92
§ 2. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE DÉDOUBLÉE	93
Modifications morphologiques de la radicule. — Stimulation des radicelles. — Rôle des facteurs nécrotiques dans la stimulation des radicelles.	
§ 3. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE DILUÉE AU QUART	104

TROISIÈME PARTIE
RÉSUMÉ DES FAITS
DISCUSSION ET INTERPRÉTATION

Chapitre Premier. — Exposé général des résultats.....	107
Chapitre Deuxième. — Discussion et interprétation de quelques faits	117
§ 1. — ACTION DE L'EAU	117
§ 2. — ACTION DU BENZÈNE	119
<i>Action du benzène sur le cytoplasme et le chondriome...</i>	120
Historique sommaire des complexes lipido-protidi- ques. — Action du benzène sur le cytoplasme : désintégration de certaines cénapses lipido-protidi- ques. — Action du benzène sur le chondriome : exis- tence de cénapses mitochondriales très stables; conséquences de l'inextractibilité de certains lipides cellulaires, critique des techniques de CIACCIO. — Structure granulaire du chondrioconte.	
<i>Action mitoclasique du benzène</i>	147
Quel est le point de départ de l'action mitocla- sique? — Existe-t-il une relation entre la mito-inhi- bition et la narcose?	
§ 3. — LA CELLULE VÉGÉTALE FIXÉE PAR LE FORMOL CONSERVE CERTAINES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES	153
§ 4. — SENSIBILITÉ PARTICULIÈRE DE LA ZONE DE DIFFÉRENCIATION DANS LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES DE LUPINUS ALBUS L. ET D'ALLIUM SATIVUM L.	155
§ 5. — ROLE DES NÉCRO-HORMONES DANS LA STIMULATION BEN- ZÉNIQUE DES RADICELLES CHEZ LUPINUS ALBUS L.	161
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	163
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	167
EXPLICATION DES PLANCHES	185

INTRODUCTION

L'action des solvants organiques sur les cellules végétales a déjà fait l'objet de nombreuses recherches; ce sont surtout les narcotiques qui ont attiré l'attention des cytologistes : la toxicité de l'éther et du chloroforme est connue grâce aux travaux de NADSON et MEISL (212, 213) ⁽¹⁾, BEAUVERIE et CORNET (39), MILOVIDOV (205), CORNET (61, 62). Les travaux de MASCRÉ et de ses élèves PICARD (24) et ROLLEN (25) méritent une place à part : ces auteurs ont entrepris l'étude systématique des modifications structurales du cytoplasme, du chondriome et du noyau, provoquées par l'éther, le chloroforme, le chlorure d'éthyle et divers alcools de la série grasse; au cours de ses recherches sur l'action de l'alcool octylique primaire (octanol), Mlle ROLLEN parvint à dégager le rôle de la tension superficielle dans les processus de vésiculation du chondriome (25). Mais ces auteurs ne se préoccupèrent pas des modifications que les narcotiques solvants (du type éther, chloroforme, alcools aliphatiques) sont susceptibles d'apporter aux processus cinétiques.

En 1935, M. le Professeur MASCRÉ nous conseillait l'étude de l'action du *benzène*; cette substance avait déjà fait l'objet de travaux fragmentaires : Mme LOURAU-DESSUS (166) a étudié, en 1928, l'action des vapeurs de benzène sur les mouvements de cyclose chez *Elodea canadensis* Rich.; MILOVIDOV (205), en 1929, a décrit l'action vésiculisante et granulisante du benzène sur le chondriome d'un *Saprolegnia*; enfin DUSTIN, en 1931, montra que le benzène provoque la dégénérescence pycnotique des noyaux de certaines cellules animales (80, 81).

Lorsque, à partir de 1938, on découvrit les propriétés mitoclasiques d'innombrables homologues ou dérivés du benzène qui, en inhibant la formation du fuseau et corrélativement la disjonction des chromatides, font apparaître les figures caractéristiques de la stathmo-

(1) Les chiffres en caractères gras renvoient à l'index bibliographique (page 167).

cinèse colchicinique, le rôle du cycle benzénique fondamental devint de plus en plus évident; et cependant WADA (264), soumettant les poils staminaux d'un *Tradescantia* aux vapeurs de benzène, ne put observer d'anomalies mitotiques; vers la même époque, GAVAUDAN et DURAND (118) ne purent que constater la grande toxicité de cet hydrocarbure. Nous fûmes le premier à signaler les propriétés mitoclasiques du benzène (196, 195); les résultats de nos observations furent ultérieurement confirmés par GAVAUDAN (112, 119, 116), et notre priorité fut, à plusieurs reprises, reconnue par cet auteur; c'est par le fractionnement des doses que nous avons pu séparer le pouvoir toxique du pouvoir mitoclasique, et observer les stathmocinèses benzéniques.

Le fractionnement des doses, appliqué à l'étude du cytoplasme et du chondriome, nous a d'autre part permis de compléter les observations de PICARD (24) sur les nombreux effets cyto-toxiques (certains réversibles, d'autres irréversibles) des narcotiques solvants.

On sait que les solvants des lipides ont une action assez complexe sur la perméabilité cellulaire: à une phase initiale (réversible) de perméabilité diminuée succède une phase de perméabilité augmentée dont la réversibilité a fait l'objet de nombreuses discussions; nous avons tenté de démontrer la réversibilité de ce deuxième stade.

Nous inspirant des belles recherches biochimiques de MACHEBŒUF et de ses élèves (SANDOR, TAYEAU, DELAGE) sur les cénapses lipido-protidiques du sérum sanguin, nous avons étudié la stabilité des cénapses du chondriome en procédant à la délipidation alcoolo-benzénique; mais nous devons avoir égard aux exigences de la technique cytologique, l'appréciation des modifications cytochimiques n'étant possible que dans une cellule dont la topographie générale était conservée: la cellule fixée par le formol s'est montrée particulièrement adéquate à ce genre de recherches qui nous ont permis d'acquiescer quelques notions nouvelles sur la structure du chondrioconte.

Pour des raisons que nous exposerons ultérieurement, nous avons utilisé le benzène en solutions aqueuses: or le rôle de l'eau n'est pas négligeable; nous avons donc étudié les conditions particulières créées par le milieu aqueux, et consacré un chapitre spécial à cette importante question.

La deuxième partie de notre travail se rapporte à la *morphogenèse*; nous avons étudié l'action du benzène sur le développement de la

jeune plantule de Lupin blanc, et en particulier sur l'évolution de la radicule.

Nous avons tenté de dégager quelques notions générales: les résultats obtenus ont été résumés, puis discutés (troisième partie).

Nous avons dédié ce travail à M. le Professeur TURCHINI; ce n'est là qu'un faible témoignage d'admiration, de fidélité et d'affection pour notre Maître auquel nous devons tant.

M. le Professeur EMBERGER a consenti à présider le jury de notre thèse, après nous avoir aidé de ses précieux conseils et encouragé nos efforts en des temps difficiles; nous lui exprimons notre profonde et respectueuse gratitude pour l'intérêt qu'il n'a cessé de porter à nos recherches.

M. le Professeur DENIZOT et Mademoiselle TUZET nous ont fait l'honneur de faire partie du jury de cette thèse; qu'il nous soit permis de leur témoigner nos sentiments de respectueuse reconnaissance.

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES CYTO-PHYSIOLOGIQUES

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE

§ I. — MATÉRIEL D'ÉTUDE

Nous avons surtout utilisé les extrémités radiculaires (méristèmes et régions sous-jacentes) du Lupin blanc (*Lupinus albus* L.) et de l'Ail (*Allium sativum* L.). Le comportement du chondriome et les modalités de sa fixation sont, pour une bonne part, liés aux conditions de germination précisées ci-après.

1° ALLIUM SATIVUM L.

Les gousses d'Ail sont placées à la surface de l'eau (eau de conduite); du plateau de ces dernières sort une couronne de racines simples, très fines, d'aspect nacré, qui atteignent en une semaine (à la température optima de 15°) une longueur de 5 à 6 centimètres.

2° LUPINUS ALBUS L.

Germination sur milieu aérien humide. — Après avoir été humectées pendant 24 heures dans l'eau de conduite, les graines de Lupin blanc sont disposées sur un lit épais de sciure de bois humide (lavée soigneusement à l'eau bouillante pour éliminer les principes phénoliques du bois) recouverte de papier filtre; à défaut de sciure on peut utiliser du coton hydrophile.

Germination sur milieu liquide. — Les graines préalablement humectées sont mises à germer sur sciure humide jusqu'à ce que les radicules atteignent 2 centimètres; puis les germinations sont portées dans des tubes à essais contenant le milieu de culture: la graine repose sur les bords du tube, seuls la jeune racine et l'hypocotyle baignent dans le liquide. Le milieu de culture sera, suivant les cas, l'eau de conduite ordinaire, l'eau de conduite diluée de moitié avec de l'eau distillée, ou une dilution au demi de la solution nutritive de Shive dont voici la composition (16):

10,40 cm³ d'une solution M/2 de nitrate de calcium.
 30 cm³ d'une solution M/2 de sulfate de magnésium.
 36 cm³ d'une solution M/2 de phosphate monopotassique.
 Eau distillée q. s. p. 1000 cm³.

Remarquons que l'eau distillée employée pure est défavorable à la germination du Lupin (CERIGHELLI et DAVID, 55, 56).

A la température optima de 20° (recherches de MACHT et de JORIOT, 16) les germes s'accroissent de 1 centimètre par jour.

3° MATÉRIEL POUR OBSERVATIONS VITALES.

Les objets étudiés ont été les feuilles d'*Elodea canadensis* Rich., les écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L., les filaments d'une Spirogyre; leur mode d'utilisation sera décrit ultérieurement.

§ II. — CYTOLOGIE CYTOPLASMIQUE ET MITOCHONDRIALE

1° Chondriome.

TECHNIQUES DE FIXATION DU CHONDRIOME

Procédé IV A de Regaud; recherches personnelles sur ses modalités d'application.

Rappelons que ce procédé consiste en une fixation primitive des pièces dans la solution officinale de formol à 20 p. cent neutralisée par le carbonate de calcium (3 à 4 jours pour l'Ail, 4 à 6 jours pour le Lupin dont le tissu méristématique est très dense); la fixation est suivie d'une postchromisation au moyen d'une solution de bichromate de potassium à 3 p. cent, mordantage destiné, selon l'opinion classique, à insolubiliser les lipides mitochondriaux. La postchromi-

sation, dont la durée optima varie avec les objets, constitue la phase la plus délicate de l'opération; la durée est en général assez longue lorsque le mordantage est effectué à la température ordinaire, en raison du faible pouvoir de pénétration du bichromate de potassium; pour abréger cette durée certains auteurs ont appliqué à la cellule végétale la technique de Parat, modification de la technique de Regaud, consistant à effectuer la postchromisation à l'étuve (37° — 40°) dans une solution saturée de bichromate de potassium (225).

Quelle que soit la technique utilisée, les cytologistes connaissent bien les « caprices » de la fixation mitochondriale; à la suite de nombreuses recherches effectuées sur les cellules végétales, nous avons acquis une certaine expérience de la question, et nous avons montré (194) que la durée optima de postchromisation relève essentiellement de deux facteurs : *le mode de développement des racines (à l'air ou dans l'eau)*, et (dans le cas où la postchromisation est effectuée à froid) *les variations même très faibles de la température ambiante*; ces facteurs sont trop souvent négligés.

Il nous paraît utile de présenter, sous forme d'un tableau, quelques exemples où la précision du mode opératoire nous a valu des résultats assez constants (tableau I, page 8) (1).

Ce tableau n'a été établi qu'à titre indicatif; on ne doit jamais se dispenser d'échelonner le séjour des pièces dans le bain de bichromate de potassium: nous montrerons en effet que le traitement benziné peut modifier la durée optima de postchromisation; en procédant à des prélèvements successifs dans le bain de bichromate, nous avons maintes fois évité de graves erreurs d'interprétation.

L'examen du tableau I (colonne des durées optima) montre que le mordantage bichromaté est régi par un coefficient de température compris entre 2 et 3; ce chiffre élevé témoigne de la nature chimique du mordantage (pouvoir oxydant du bichromate de potassium) (2);

(1) Les indications de pages *en italique* renvoient au texte du présent ouvrage.

(2) On pourrait nous objecter que notre détermination du Q_{10} de postchromisation n'est pas valable du fait que nous n'avons pas utilisé la même concentration de bichromate au cours de nos divers essais; en fait, la postchromisation s'effectue dans les conditions d'une réaction chimique dite du premier ordre: qu'il s'agisse de la solution de bichromate de potassium à 3 p. cent ou de la solution saturée, le réactif se trouve toujours en très grand excès par rapport aux lipides mitochondriaux qu'il doit oxyder,

TABLEAU I

Quelques exemples de fixation mitochondriale par la méthode au formol-bichromate de K.

Matériel et mode de développement	Age des germinations	Durée de la fixation préalable par le formol	Conditions du mordantage bichromaté température ⁽¹⁾ de post- chromisation	titre de la solution de bichromate	<i>durée optima</i> (pour le plérome)
Méristèmes radiculaires d' <i>Allium sativum</i> L., ayant développé ses racines dans l'eau	6 à 8 jours	3 à 4 jours	15°	3 p. cent	8 jours
Méristèmes radiculaires de <i>Lupinus albus</i> L., ayant germé sur sciure de bois ou sur coton humides	3 à 6 jours	4 à 6 jours	{ 10° 20° 40°	3 p. cent 3 p. cent sol. saturée ⁽²⁾	40 jours 16 à 20 jours 2 à 3 jours
Méristèmes radiculaires de <i>Lupinus albus</i> L., ayant germé sur milieu liquide (eau de conduite ou dilution au 1/2 de la solution nutritive de Shive)	3 à 7 jours	4 à 6 jours	{ 20° 40°	3 p. cent sol. saturée ⁽²⁾	12 jours 1 à 2 jours

⁽¹⁾ Toutes ces températures (sauf celle de 40° dans l'étuve spécialement réglée) représentent la moyenne ambiante en cours d'expérience.

⁽²⁾ On effectue la saturation à la température de 40°, conformément à la technique originale de Parat (225).

signalons cependant que, selon BELEHRADEK (40), un grand Q_{10} n'exclut pas un processus physique concomitant tel que la diffusion ou la variation de viscosité : « le Q_{10} , dit cet auteur, permet de reconnaître le degré relatif de la viscosité du protoplasme dans lequel parcourt une réaction donnée ».

Nous ne saurions trop insister sur la nécessité d'un lavage extrêmement énergique des pièces mordancées à l'étuve; ces dernières ont pris une coloration brune due à l'adsorption d'un excès de bichromate très nuisible aux colorations ultérieures: on procèdera donc à un lavage de 24 à 48 heures sous un très fort jet d'eau courante; la non-observation de cette règle nous a valu de graves déboires au début de nos recherches, au point que nous avons momentanément renoncé à la technique de postchromisation à chaud (194).

Signalons enfin quelques difficultés inhérentes à l'inclusion du méristème radiculaire de Lupin; ce dernier, constitué par un tissu très dense, se laisse difficilement déshydrater; instruit par de nombreux échecs nous nous sommes astreint à employer les échelons suivants, fort différents de ceux de Parat :

Alcool à 50°		2 heures
— à 75°		2 heures
— à 90°		2 heures
— à 95°		2 heures
— à 100°		2 à 3 jours (en renouvelant le liquide)
Xylol		2 à 3 jours (en renouvelant le liquide)
Paraffine		5 à 6 heures (en renouvelant le bain)

Fixation par le liquide de Meves (solution de Flemming faible), suivie d'une postchromisation de durée variable (10 à 20 jours à froid, 1 à 2 jours à l'étuve réglée à 40°).

TECHNIQUES DE COLORATION DU CHONDRIOME

Coloration par l'hématoxyline ferrique d'Heidenhain selon le procédé courant. Bornons-nous à rappeler que les coupes fixées par le liquide de Meves doivent être, avant coloration, immergées pendant 12 heures dans un mélange de 2 parties d'alcool à 90° et d'une partie d'eau oxygénée officinale; ce traitement préliminaire a pour objet d'éliminer l'osmium réduit au niveau des inclusions lipidiques.

Coloration d'Altmann (modifiée par Kull) par la fuchsine acide de Grübler.

2° Inclusions osmiophiles.

Les coupes fixées par le liquide de Flemming (ou le liquide de Meves) sont colorées par la safranine selon la méthode classique; mais *il est parfaitement inutile* de procéder à la coloration de fond habituelle par le vert lumière; cette coloration de fond risquerait même d'être nuisible dans certains cas d'osmioréduction incomplète où l'on doit se contenter d'observer des taches bistres, témoins d'une lipophanérose discrète.

Il importe de savoir que les processus de ségrégation lipidique n'aboutissent pas nécessairement à l'apparition d'inclusions osmioréductrices; on sait en effet d'après les recherches de Mulon (211) que la réduction de l'acide osmique est surtout produite par les « oléines », tandis que les « stéarines » et les « palmitines », corps saturés, ne réduisent pas l'acide osmique dans les conditions ordinaires; les techniques d'imprégnation à l'osmium ne sont donc susceptibles de nous fournir que des renseignements limités.

§ III. — CYTOLOGIE NUCLÉAIRE

FIXATION

La fixation des noyaux a été effectuée au moyen du liquide de Flemming *fort*, dont nous rappelons la composition :

acide chromique à 1 p. cent	15 cm ³
acide osmique à 2 p. cent	4 cm ³
acide acétique cristallisable	1 cm ³

Nous avons réduit au minimum la durée de la fixation, à seule fin d'éviter la dissociation des pièces et d'obtenir des coupes convenables; nous avons obtenu d'excellentes fixations de noyaux après 6 heures seulement de séjour dans le liquide de Flemming. L'inclusion à la paraffine a été effectuée selon le procédé habituel.

Exceptionnellement, nous avons eu recours au liquide fixateur de Bouin,

COLORATIONS

Hématoxyline de Heidenhain. —

Safranine-vert lumière. —

Réaction nucléale de Feulgen. — On sait (BRACHET, 3) qu'il existe deux types d'acides nucléiques dont la localisation est différente tant chez les animaux que chez les végétaux supérieurs; l'acide thymonucléique se trouve exclusivement dans le noyau, l'acide zymonucléique est localisé dans le cytoplasme; ces deux types diffèrent surtout par la nature du glucide, l'acide thymonucléique libérant par hydrolyse du *d* ribodésose, alors que l'acide zymonucléique libère du *d* ribose; les propriétés chimiques de ces deux glucides permettent de les distinguer facilement: le ribodésose est notamment capable de recolorer la fuchsine décolorée par SO_2 , contrairement aux pentoses dont le *d* ribose est le type. La réaction de Feulgen et Rossenbeck, basée sur cette dernière propriété, figure dans tous les traités récents de technique histologique (19, 18); sans nous étendre sur les modalités d'application de cette réaction histo-chimique, nous nous bornerons à rappeler que chacune des phases opératoires comporte des conditions *optima* (durée, température) variables avec l'espèce végétale ou animale étudiée.

. Nous avons, pour notre part, observé les règles suivantes :

durée de la délipidation préalable dans l'alcool à 96°	12 à 24 heures
conditions de l'hydrolyse chlorhydrique.....	16 minutes à la température de 60°
durée du séjour dans le réactif fuchsino-sulfurique..	3 heures

Résultats : Les méristèmes radiculaires d'Ail (dont le noyau est du type réticulé) se prêtent remarquablement à la réaction de Feulgen; par contre le noyau euchromocentrique du Lupin réagit d'une manière moins intense; il nous paraît intéressant de signaler que MILOVIDOV (206) a indiqué, pour le Lupin, des conditions techniques différentes :

durée de la délipidation préalable	48 heures
conditions de l'hydrolyse	30 min. à la température de 50°
durée du séjour dans le réactif fuchsino-sulfurique. ...	2 h. 30 min.

Réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien (256, 257). — Cette réaction est basée sur les propriétés des fluorones (méthyl- ou phényl-fluorone) qui, par leurs fonctions phénoliques, réagissent avec les

sucres en donnant des colorations spécifiques. Le mode opératoire est celui d'une réaction de Feulgen où l'on aurait remplacé le réactif fuchsino-sulfurique par une fluorone.

Les coupes, privées de plasmalogène par un séjour de 12 à 24 heures dans l'alcool à 96°, sont hydrolysées par l'acide chlorhydrique Normal à la température de 60°, ou de préférence par l'alcool chlorhydrique à 8 p. cent (ClH de densité 1,19 : 8,25 cm³ — alcool à 90°, q. s. p. 100 cm³) à la température ordinaire.

TURCHINI, CASTEL et KIEN ont récemment étudié les conditions de l'hydrolyse liées 1° à la nature du fixateur, 2° à l'espèce végétale ou animale étudiée. Nous avons résumé les résultats de leurs premières déterminations relatives au Lupin et à l'Ail; le tableau suivant, dressé à titre documentaire, ne doit pas être tenu pour immuable :

TABLEAU 2

<i>Allium sativum</i> L.		
Liquide fixateur	Mode d'hydrolyse	Durée et température de l'hydrolyse
Flemming	ClH N.	20 à 25 min. à 60°
Bouin	ClH N.	10 min. environ à 60°
Flemming	Alcool chlorhydrique à 8 p. cent	15 min. au minimum, température ordinaire
Bouin	Alcool chlorhydrique à 8 p. cent	9 à 10 min., température ordinaire
<i>Lupinus albus</i> L.		
Liquide fixateur	Mode d'hydrolyse	Durée et température de l'hydrolyse
Flemming	Alcool chlorhydrique à 8 p. cent	15 à 20 min., température ordinaire
Bouin	Alcool chlorhydrique à 8 p. cent	5 à 6 min., température ordinaire

L'hydrolyse terminée, on lave les coupes à l'alcool et on colore sur lames, pendant 15 minutes environ, avec le réactif à la fluorone

[méthyl ou phénylfluorone ⁽¹⁾] (257). On lave à l'alcool puis à l'eau; on porte les coupes dans une solution de carbonate de soude à 1 p. cent, où elles séjournent 4 à 5 minutes; on rince à l'eau et on monte au baume.

Voici les résultats obtenus avec la phényltrihydroxyfluorone : le réticulum de l'Ail, les prochromosomes du Lupin sont violacés ou bleu violacé, le *nucléole est orangé*, le cytoplasme est jaune rosé.

Cette réaction nous a été précieuse pour l'étude du nucléole.

§ IV. — OBSERVATIONS VITALES

Les techniques seront décrites dans le chapitre IV (page 74) spécialement consacré à l'étude vitale.

(¹) Méthyltrihydroxyfluorone
ou phényltrihydroxyfluorone 0,08 gr.
SO⁴H² XV gouttes
Alcool à 95° 100 cm³.

CHAPITRE DEUXIÈME

ACTION DE L'EAU SUR LES EXTRÉMITÉS
RADICULAIRES DE LUPINUS ALBUS L.

Les altérations du chondriome dues à l'hypotonie sont aujourd'hui bien connues; elles consistent en une vésiculisation immédiate (cavulation) décrite depuis longtemps par FAURÉ-FREMIET, W. H. et M. R. LEWIS, CIACCIO, BANG et SJOWALL, PROWAZEK, GUILLIERMOND. Ces altérations sont-elles réversibles? Cet important problème semble avoir été quelque peu négligé jusqu'à présent. Signalons cependant divers faits qui cadrent mal avec les précédentes observations des cytologistes: de nombreux végétaux supérieurs (sans parler des végétaux aquatiques) offrent peu d'exigences du point de vue osmotique; CERIGHELLI et DAVID (55) ont montré que l'eau distillée additionnée de traces minimales de calcium convient parfaitement aux germinations de Pois; la structure fine (cytoplasme et chondriome) des racines d'Ail que nous avons fait développer dans l'eau de conduite (page 5), sans nous préoccuper de l'isotonie, a toujours été normale.

L'hypotonie du milieu pose donc, du point de vue cytologique, un certain nombre de problèmes.

Le méristème radiculaire de *Lupinus albus* L. se prête fort bien à l'étude des altérations dues à l'hypotonie, des conditions de retour à la normale et de l'adaptation au milieu aqueux.

Sauf indication contraire, les plantules de Lupin blanc dont il sera question dans le présent chapitre ont toujours germé sur milieu aérien humide, et non pas sur milieu liquide; tout séjour ultérieur dans l'eau a eu des conséquences importantes, qu'il se fût agi de pièces vivantes ou de pièces fixées par le formol.

Rappelons brièvement la structure cytologique normale du méristème radiculaire de *Lupinus albus* L.; ce dernier, d'une longueur approximative de 500 μ , comprend :

le *périlème* (ensemble des cellules embryonnaires de l'écorce) constitué par des cellules isodiamétriques, assez vacuolisées, pourvues de chondriocontes courts (planche I, fig. b).

Le *plérôme* (ensemble des cellules embryonnaires du cylindre central) qui sera l'objet principal de nos descriptions ultérieures;

il est constitué par des cellules allongées, peu vacuolisées, pourvues de longs chondriocentes (planche I, fig. a).

Nous aurons maintes fois l'occasion de constater l'autonomie physiologique du périblème et du plérome.

§ I. — ACTION DE L'EAU SUR LA CELLULE VIVANTE

(Extrémités radiculaires de *Lupinus albus* L.
ayant germé sur milieu aérien.)

A. POUVOIR PERMÉABILISANT DU MILIEU AQUEUX

Nous avons montré (tableau 1, page 8) que les modalités de la fixation de Regaud dépendent, pour une part, des conditions de la germination, exemple : des extrémités radiculaires de Lupin cultivé sur milieu liquide nécessitent une postchromisation de 12 jours à la température de 20°; si les racines se sont développées à l'air, la postchromisation sera plus longue (16 à 20 jours) ⁽¹⁾. Autrement dit la perméabilité, vis-à-vis du bichromate de potassium, est augmentée lorsqu'une imbibition aqueuse a précédé la fixation.

B. ACTION DU MILIEU HYPOTONIQUE SUR LE CYTOPLASME ET LE CHONDRIOME

1^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES (COURTES DURÉES)

De jeunes plantules de Lupin blanc, développées à l'air, sont immergées dans l'eau de canalisation pendant 1 heure à 1 h. 30, puis remises en culture sur leur milieu habituel (sciure de bois humide); des fixations ont été effectuées au sortir immédiat de l'eau, puis le lendemain et le surlendemain. Nous avons opéré en présence de témoins n'ayant jamais quitté leur milieu aérien.

Résultats observés au sortir immédiat de l'eau, dans le plérome méristématique.

(1) Rappelons que ces données se rapportent à la fixation optima du plérome méristématique.

On note la présence de vésicules mitochondriales; toutes les cellules ne sont pas également altérées : la figure 1 ci-dessous et la figure c de la planche I représentent un type « moyen » de cavulation.

D'autre part les processus de différenciation se sont étendus à la région basale du méristème où la *vacuolisation s'accroît* ⁽¹⁾ et s'accompagne de sécrétions intravacuolaires sidérophiles; les grains

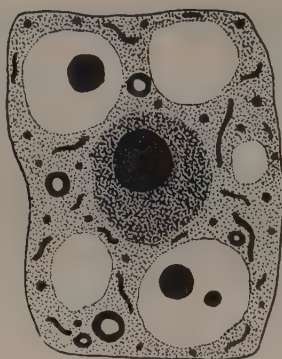


FIGURE 1

Action de l'eau sur la racine de Lupinus albus L. Cellule axiale du plérome méristématique : quelques vésicules mitochondriales, cytoplasme vacuolisé, précipités sidérophiles intravacuolaires (fixation et coloration de Regaud)

vacuolaires sont parfois comparables aux mitochondries (planche I, fig. c), parfois énormes (figure 1 ci-dessus), rappelant les grains de sécrétion de certaines cellules animales.

Dans les conditions où nous avons opéré, l'hypotonie n'a presque jamais provoqué la ségrégation de lipides osmioréducteurs; rappelons cependant que BEAUVERIE a observé divers cas de lipophanérose par anisotonie (36).

Observations effectuées après 24 heures et 48 heures de retour sur le milieu aérien habituel.

Les altérations ci-dessus décrites sont sans gravité et parfaitement réversibles; après « retour » sur sciure humide, les vésicules mitochondriales et les précipités intravacuolaires disparaissent; chondriome et vacuome retrouvent leur structure normale.

⁽¹⁾ Cette vacuolisation est tout à fait comparable à celle qui a été observée par TURCHINI (29) au cours de l'hypersécrétion aqueuse (provoquée par injection d'eau) de la cellule rénale de l'Escargot.

Nos résultats s'accordent avec ceux de KAMNEV (143) qui a montré la réversibilité de la cavulation « hypotonique » des chondriosomes chez les Amphibiens. Signalons par contre que, selon DANGEARD (67), la vésiculisation « hypotonique » du chondriome dans les poils aériens de Courge serait irréversible.

2^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES (LONGUES DURÉES)

De jeunes plantules de Lupin blanc, développées à l'air, sont transportées sur milieu liquide hypotonique pour une durée variable (2 à 8 jours); nous avons préparé, à cet effet, une dilution au 1/2 d'eau distillée et d'eau de canalisation ⁽¹⁾ dont nous avons déterminé la pression osmotique par la méthode cryoscopique : le Δ de ce milieu est de 0,03, représentant une pression osmotique de 0,36 atmosphère, valeur extrêmement faible en regard de la pression de 5 atmosphères qui règne normalement dans les cellules du méristème racinaire de Lupin (GAUTHERET, 6).

Résultats obtenus après 2 jours de séjour dans l'eau. — Le chondriome est normal (absence de vésicules); le cytoplasme est vacuolisé.

Résultats obtenus après 8 jours de séjour dans l'eau. — Le chondriome est normal; ce dernier fait donc preuve d'un pouvoir d'adaptation remarquable.

Le comportement du vacuome est assez curieux; la vacuolisation a régressé dans les cellules du plérôme; le périblème, par contre, reste très vacuolisé. Il nous paraît intéressant de signaler cette divergence qui accentue la dualité morphologique des cellules du périblème et du plérôme méristématiques.

§ II. — ACTION DE L'EAU SUR LA CELLULE FORMOLÉE

(Extrémités racinaires de *Lupinus albus* L.
ayant germé sur milieu aérien).

Le pouvoir perméabilisant de l'eau ne se manifeste pas seulement à l'égard de la cellule vivante, il persiste après fixation, exemple :

Des méristèmes racinaires de Lupin ayant germé pendant 5 jours sur milieu aérien humide, à la température de 24°, sont fixés pendant

⁽¹⁾ Eau de Montpellier.

6 jours dans une solution de formol à 20 p. cent neutralisée; les pièces sont divisées en deux lots : le premier lot séjournera dans l'eau distillée pendant 24 heures, le deuxième, pendant 72 heures; puis chaque lot sera postchromé selon la technique de Dietrich-Parat, des prélèvements devant être effectués dans le bain de bichromate à la 24^e heure, à la 48^e heure, à la 72^e heure.

En somme nous avons modifié la technique mitochondriale habituelle en intercalant un bain d'eau, de durée variable, entre le bain de formol et celui de bichromate.

Résultats. — Le bain d'eau intercalaire a pour effet de perméabiliser les cellules à l'égard du bichromate de potassium, ainsi qu'il ressort de la comparaison suivante :

	Durée du bain d'eau intercalaire	Durée optima de postchromisation (à 40°)
lot n° 1	24 heures	72 heures
lot n° 2	72 heures	24 heures

On peut donc, dans certaines limites, abréger la durée du séjour dans le bain de bichromate, si l'on prolonge d'autant le bain d'eau postformolé.

En résumé, la fixation formolée a conservé à la cellule ses possibilités d'imbibition aqueuse: la perméabilisation par l'eau de la cellule *formolée* rappelle en tous points la perméabilisation par l'eau de la cellule vivante.

Les quelques expériences décrites dans ce chapitre témoignent du rôle de l'eau et reflètent l'extrême sensibilité de la cellule aux conditions d'hydratation.

CHAPITRE TROISIÈME

ACTION DU BENZÈNE SUR LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES DE LUPINUS ALBUS L. ET D'ALLIUM SATIVUM L.

§ I. — RAPPEL DE QUELQUES PROPRIÉTÉS DU BENZÈNE — CHOIX DE LA FORME D'UTILISATION

Le benzène, solvant type des lipides, est un narcotique dont l'activité est discutée (210, 100, 7 p. 814). Sa solubilité dans l'eau, faible, mais non négligeable, a été très étudiée; si l'on tient compte des difficultés de détermination, on remarquera que les valeurs trouvées par différents auteurs sont assez concordantes :

<i>Auteur</i>	<i>Solubilité du benzène dans l'eau (en grammes p. cent)</i>	<i>Température</i>
HILL (133)	0,15 p. cent	0°
MOORE et ROAF (210) ...	0,15 p. cent	15°
GROSCHUFF, cité d'après BARBAUDY (33).....	0,20 p. cent	« t° ambiante »
GROSS et SAYLOR (126) ..	0,18 p. cent	30°

Nous admettrons donc que l'eau dissout 0,15 à 0,20 p. cent de benzène à la température ordinaire.

Le benzène est fortement tensioné négatif; son activité de surface a été déterminée par PICON et MANGEOT (231) qui, utilisant la méthode dite du tube capillaire, obtinrent les valeurs suivantes :

Tension superficielle du benzène : 28,88 dynes/cm à 20°.

Tension superficielle de l'eau : 72,85 dynes/cm à 20°.

Malgré ce caractère le benzène n'influence pas la tension superficielle de ses solutions aqueuses; des déterminations que nous avons faites au moyen du compte-gouttes de Duclaux, il résulte que la solution aqueuse saturée de benzène donne, exactement comme l'eau, 100 gouttes pour 5 cm³ à la température de 15°; nous confir-

mons ainsi les résultats antérieurs de FUEHNER (100) d'ailleurs explicables par la très faible solubilité du benzène.

Cet hydrocarbure, bien que très peu soluble, bien que sans influence pratique sur la tension superficielle de ses solutions aqueuses, confère à ces dernières une toxicité imprévue qu'illustre l'expérience suivante : un séjour de 1 heure 30 dans l'eau saturée de benzène a toujours suffi pour provoquer la nécrose des méristèmes de Lupin; un séjour de même durée en atmosphère saturante de benzène, sous la cloche à vide, a rarement conduit à des altérations du même ordre. Dès le début de nos recherches, nous avons fait notre choix entre les vapeurs et les solutions aqueuses. Les vapeurs de benzène offrent un double inconvénient : il est difficile de connaître avec précision la dose agissante, et, ce qui est plus grave, l'action des vapeurs est directement liée à l'état d'hydratation éminemment variable de plantules ayant germé à l'air, sur un fond de germination plus ou moins humide. Tous ces inconvénients disparaissent avec l'usage des solutions aqueuses dont on peut régler la toxicité par simple dilution. Il est cependant vrai (cf. le précédent chapitre) que l'eau ne se borne pas à son rôle de solvant : elle intervient pour son compte d'une manière active, superposant son action à celle du corps dissous; il nous faudra, le cas échéant, tenir compte de cette dualité.

Dans une note très récente, GAVAUDAN (114) a reconnu les avantages des solutions aqueuses pour l'étude quantitative de la mito-inhibition.

§ II. — OBSERVATIONS EFFECTUÉES SUR LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES DE LUPINUS ALBUS L.

Les racines de Lupin utilisées pour ces expériences ont toujours germé à l'air.

A. — ACTION DU BENZÈNE SUR LA CELLULE VIVANTE

1^o Détail d'une expérience.

a) Préparation des solutions aqueuses de benzène (193).

Dans un entonnoir à décantation on agite à plusieurs reprises, avec de l'eau de conduite, un excès de benzène *pur* et on laisse reposer

24 heures à la température du laboratoire; on filtre ensuite sur papier humide. Ayant ainsi obtenu la solution saturée de benzène, nous préparons des dilutions au demi et au quart de saturation. Les teneurs en benzène de ces trois solutions ont été évaluées d'après les chiffres de solubilité précédemment indiqués; elles sont approximativement les suivantes :

	<i>teneur en benzène (en gr. p. cent)</i>
Eau benzinée saturée	0,15 à 0,20 p. cent
» » dédoublée	0,08 à 0,10 p. cent
» » diluée au quart .	0,04 à 0,05 p. cent

Un tel fractionnement de doses nous a permis d'analyser la toxicité du benzène, notre but initial étant de déterminer avec précision les conditions de *réversibilité* de certaines altérations cytologiques.

Les troubles de la morphogenèse seront décrits à part, dans la deuxième partie de notre travail.

b) *Conduite de l'expérience.*

De jeunes plantules de Lupin blanc ayant germé sur milieu aérien humide sont entièrement immergées pendant 1 heure à 1 h. 30, soit dans l'eau de conduite (témoins), soit dans l'eau saturée de benzène, soit dans l'eau benzinée saturée dédoublée, soit enfin dans l'eau benzinée saturée diluée au quart. Elles sont ensuite très soigneusement lavées à l'eau, puis « *mises en retour* », c'est-à-dire replacées sur la sciure de bois humide où elles s'étaient développées. Les extrémités radiculaires ont été fixées et colorées par les méthodes habituelles, soit immédiatement au sortir du réactif, soit après retour de 24 heures ou de 48 heures.

2° **Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée** (durées : 1 heure à 1 heure 30).

Planches II - III - IV

CYTOPLASME

L'affinité du cytoplasme pour la laque ferrique est très diminuée; ce dernier, qui a perdu toute structure vacuolaire, a un aspect gros-

sièrement granuleux (planche II, fig. *a* : cellule du plérome méristématique) et apparaît parfois plasmolysé. Après retour des pièces sur leur milieu normal, l'état de plasmolyse s'accroît dans certaines cellules du plérome (planche II, fig. *b*); remarquons que la plasmolyse observée après fixation par la méthode de Regaud n'est pas imputable à un artéfact de préparation; nos observations vitales, effectuées sur des Spirogyres, ont permis de confirmer l'action plasmolysante du benzène (page 74).

Nous avons noté à maintes reprises que les cellules axiales du plérome sont plasmolysées plus facilement que les autres; la sensibilité inégale des cellules d'un même tissu a déjà fait l'objet de nombreuses observations: Mlle BAZIN (2, p. 98), Fr. WEBER (269), MODER (208) ont signalé des faits du même ordre au cours de la pénétration de divers toxiques dans les cellules d'*Elodea canadensis* Rich.

CHONDRIOME

Les chondriocontes sont granulisés et font place à des chondriomites (planche II, fig. *a*) dont les grains ne tarderont pas à se disperser: l'action granulisante du benzène est comparable à celle des nombreux narcotiques dont les effets cyto-toxiques ont été décrits par PICARD (24) et par ROLLEN (25). On n'observe pas de vésicules, mais des sphérules sidérophiles paraissant résulter de la fusion de certains grains.

Après retour des pièces sur leur milieu normal, le nombre des sphérules augmente au fur et à mesure que les chondriomites disparaissent; nous avons figuré sur la planche II une cellule du plérome (fig. *b*) et une cellule du périlème (fig. *c*) présentant ce type d'altération; on notera que, dans le plérome, l'agglutination péri-nucléaire des sphérules mitochondriales est fréquente (planche II, fig. *b*).

Les altérations du chondriome provoquées par l'eau benzinée saturée sont irréversibles; nous pouvons affirmer que le stade « sphérulaire » du chondriome exclut toute possibilité de retour à la structure normale. PICARD (24, p. 31) ayant déjà formulé une conclusion analogue en étudiant l'action de l'éther et du chloroforme, il apparaît que le stade sphérulaire consécutif à la granulisation des chondriocontes représente une image extrêmement précise de la mort cellulaire provoquée par les narcotiques solvants.

LIOPHANÉROSE

Ces observations ont été effectuées sur des pièces fixées par le liquide de Flemming et colorées par la safranine; nous nous sommes abstenu à dessein de toute coloration de fond.

Remarquons d'abord que les fixateurs osmiés communiquent au cytoplasme des témoins une légère teinte grisâtre (planche III, fig. *a* : cellule du plérome méristématique).

Au sortir immédiat de l'eau benzinée saturée, on peut dresser le tableau quasi-constant des modifications suivantes : dans le méristème proprement dit, le cytoplasme a une teinte grise nettement plus foncée (planche III, fig. *b*) que celle des témoins, preuve d'une osmio-réduction discrète. Mais au fur et à mesure qu'on s'éloigne du méristème, les figures de lipophanérose se précisent; la figure *c* de la planche III représente une cellule en voie de différenciation du plérome sous-méristématique⁽¹⁾ : dans un fond granuleux bistre apparaissent de nombreux grains noirs d'osmium témoins d'une réduction totale; en somme, l'action toxique du benzène s'exerce préférentiellement sur les cellules sous-méristématiques; nous aurons maintes fois l'occasion de constater l'état de fragilisation de la zone subterminale.

Les figures de lipophanérose benzénique observées dans le plérome sont souvent agglutinées autour du noyau et représentent un véritable *décalque à l'osmium* des sphérules périnucléaires colorables par les techniques mitochondriales; il suffit, pour s'en rendre compte, de comparer les figures suivantes, correspondant l'une et l'autre au maximum d'altération :

Planche II, fig. *b* (fixation et coloration de Regaud),

Planche III, fig. *c* (fixation par le liquide de Flemming).

Aussi nous semble-t-il certain que les grains osmiophiles observés correspondent, pour une part tout au moins, à des lipides ayant appartenu au chondriome.

Nous terminerons cette description par la remarque suivante : C'est au sortir immédiat de l'eau benzinée saturée que la lipophanérose s'est révélée le plus nettement; après retour des plantules

(1) *Note importante* : Nous tenons à préciser une fois pour toutes que nous désignons, sous le terme « cellules sous-méristématiques », les cellules de la région subterminale.

de Lupin sur leur milieu normal, les figures d'osmio-réduction s'estompent peu à peu; ce fait témoigne de la disparition progressive des lipides qui, après avoir été libérés de leurs complexes, sont vraisemblablement oxydés par un processus fermentaire.

NOYAUX QUIESCENTS OU EN INTERPHASE

Le noyau du Lupin est du type euchromocentrique; remarquons toutefois que l'ancienne classification (noyaux réticulés, noyaux euchromocentriques) est assez artificielle; EICHHORN (dont les travaux sont classiques), Mlle DELAY (74), Mme EFTIMIU-HEIM (82), DANGEARD (69, 65, 71) ont caractérisé de nombreuses formes de passage entre les deux grands types; DANGEARD a même montré (65) que le noyau du Lupin a une structure réticulée rudimentaire s'accroissant dans les milieux acides.

Pour analyser l'action du benzène nous avons recouru à la méthode des « colorations convergentes » (GUILLIERMOND, 10, pp. 16 à 21). Dans le méristème racinaire normal du Lupin fixé par le liquide de Flemming et coloré par l'hématoxyline, les noyaux quiescents du plérôme ont l'aspect suivant (planche IV, fig. c) : caryolympe parfaitement claire, prochromosomes et nucléoles sidérophiles. La réaction nucléale de Feulgen ne colore que les prochromosomes (planche IV, fig. a, où la teinte rouge a été figurée en gris), le nucléole apparaissant légèrement jaune. La réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien confère aux prochromosomes une teinte bleu violacée, au nucléole une teinte orangée.

Après 1 heure à 1 h. 30 de séjour dans l'eau benzinée saturée, les altérations suivantes ont été constatées dans le plérôme : les noyaux sont très contractés, la caryolympe est très sidérophile; la fig. d de la planche IV représente un noyau benziné coloré par la méthode d'Heidenhain : malgré une différenciation très poussée (d'une durée de 15 à 20 minutes !) la caryolympe a gardé l'hématoxyline et forme une auréole sidérophile autour du nucléole très pâle. Les réactions nucléales de Feulgen, de Turchini, Castel et Kien, révèlent que l'acide nucléique des prochromosomes s'est partiellement disséminé dans l'aire nucléaire, parfois même dans le nucléole (planche IV, fig. b : réaction de Feulgen); mais les prochromosomes et le nucléole restent parfaitement reconnaissables. Sans le secours des réactions nucléales l'interprétation eût été fort délicate, car les coupes colorées

par l'hématoxyline et fortement régressées (planche IV, fig. *d*; comparer avec la figure témoin *c*) peuvent suggérer à tort la dissolution du nucléole: au cours de ses recherches sur l'action de l'éther et du chloroforme, PICARD (24) semble avoir commis une erreur de ce genre, erreur bien explicable à une époque où la réaction de Feulgen était peu connue des cytologistes.

En somme, le benzène déclenche un processus de pycnose typique, par diffusion partielle de l'acide nucléique des prochromosomes; nous confirmons ainsi les résultats de DUSTIN (80, 81) qui, au cours de ses recherches histophysiologiques sur les centres germinatifs lymphoïdes, montra que le benzène provoque la destruction pycnotique des thymocytes.

Après retour des pièces benzinées sur leur milieu normal, les altérations que nous venons de décrire s'accroissent: le noyau subit une autolyse plus ou moins complète; la chromatine se répand parfois dans le cytoplasme qui devient colorable par les réactions nucléales: c'est le stade ultime, bien connu, de la dégénérescence nucléaire. Des altérations analogues ont été récemment observées par Mlle VILLARS, après action du thymol (262).

NOYAUX EN CINÈSE

Les noyaux en cinèse ne présentent pas la même sensibilité aux divers stades: ils sont particulièrement altérés au début de la prophase, où l'on constate des altérations du même ordre que dans les noyaux quiescents; l'eau benzinée saturée respecte généralement la structure des chromosomes dont l'individualisation est achevée.

Le fuseau de caryocinèse *semble* avoir disparu, mais cette destruction apparente n'est pas accompagnée, chez le Lupin, des anomalies anaphasiques auxquelles on aurait pu s'attendre: toutes les cinèses ont leur aspect normal; cela semble signifier simplement que l'eau benzinée saturée, très toxique, immobilise rapidement les cinèses et, de ce fait, rend impossible tout processus mitotique (même anormal); on s'explique ainsi, comme nous le montrerons dans les pages suivantes, qu'une réduction de la toxicité par dilution au demi de la solution saturée de benzène permette l'apparition de certaines anomalies mitotiques analogues à celles qui sont provoquées par de nombreuses substances mitoclasiques.

Après retour des pièces sur leur milieu normal, les noyaux en cinèse subissent une autolyse et perdent toute structure organisée.

3° Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée dédoublée (durées : 1 heure à 1 h. 30).

Planches V et VI

La teneur en benzène de l'eau benzinée saturée dédoublée est, en moyenne (*page 21*), de 0,09 gr. p. cent. Du point de vue de la toxicité, il s'agit là d'une concentration seuil dont l'étude est intéressante. L'expérience suivante, qui anticipe quelque peu sur nos descriptions ultérieures, montre les conséquences extrêmement variables d'une action s'exerçant à la limite de la toxicité : après avoir séjourné 1 heure 30 dans l'eau benzinée dédoublée, les radicules de Lupin blanc ont (au sortir immédiat du réactif) un aspect extérieur tout à fait normal; replaçons les plantules sur la sciure de bois humide pour une durée de 24 heures : leur destinée est variable; au minimum d'altération le méristème d'apparence intact est surmonté d'une zone tuméfiée (*fig. 12 b, page 94*); au maximum d'altération, le méristème envahi par la nécrose est devenu jaune, filiforme (*fig. 12 d, page 94*).

Nous avons étudié les divers aspects cytologiques du méristème, en particulier les figures *réversibles* du chondriome.

CYTOPLASME

Au sortir immédiat de l'eau benzinée dédoublée, le cytoplasme ⁽¹⁾, très vacuolisé, a une structure comparable à celle des témoins ayant séjourné dans l'eau pure, mais il est moins sidérophile; il est certes très difficile de donner une définition précise de la sidérophilie cytoplasmique, laquelle dépend de nombreux facteurs : durée de la post-chromisation, affinité du cytoplasme pour la laque d'hématoxyline, degré de régression par l'alun de fer; nous pouvons cependant affirmer que, toutes choses égales par ailleurs, et après une différenciation convenable, le cytoplasme des pièces benzinées était générale-

(1) Observations effectuées dans le plérome méristématique.

ment plus clair que celui des témoins : le benzène semble avoir « décrassé » la cellule, en débarrassant le cytoplasme de substances dont on peut présumer la nature lipidique.

Le cytoplasme des pièces replacées sur leur milieu habituel a un sort variable ; parfois la vacuolisation régresse, parfois elle s'accroît et confère au méristème l'aspect d'un tissu adulte.

CHONDRIOME

La sidérophilie atténuée du cytoplasme facilite beaucoup la différenciation du chondriome par la solution d'alun de fer, et les colorations sont généralement très fines.

Au sortir immédiat de l'eau benzinée dédoublée, l'altération du chondriome reste limitée à un stade intermédiaire, celui de la granulation des chondriocontes et des plastes (planche V, fig. *a*) : la granulation est intégrale, mais on n'observe aucune figure d'agglutination des grains en sphérules.

Après retour des pièces sur leur milieu habituel, le chondriome granulé a une destinée variable : parfois les altérations se poursuivent, rappelant celles qui sont provoquées par l'eau benzinée saturée ; d'autres fois les grains des chondriomites se dispersent, et le chondriome se stabilise quelque peu à l'état de grains épars conférant au cytoplasme un aspect « piqué » (planche V, fig. *b*) ; enfin on observe souvent un net retour à la normale : les chondriocontes tendent à se reformer (planche V, fig. *c* : « retour » de 24 heures) ; on voit alors apparaître, dans le cytoplasme plus ou moins vacuolisé, de curieuses formes de restitution filamenteuses, notamment des chapelets moniliformes dont les grains sont reliés par un fin tractus sidérophile (planche V, fig. *c*) : ces figures, extrêmement fines, démontrent que le stade de granulation des chondriocontes est parfaitement réversible, et nous pouvons affirmer, à la suite de très nombreuses observations, que la réapparition des chondriocontes ne correspond pas seulement à un processus de réparation occasionnel. Le balancement entre la forme chondriomite et la forme chondrioconte est un précieux test de *réversibilité* structurale ; un tel comportement suggère en outre que le *chondrioconte* a une structure dont les grains représentent l'élément stable.

LIOPHANÉROSE

L'eau benzinée dédoublée ne provoque pas en général la ségrégation des lipides osmioréducteurs; dans quelques cas seulement, après « retour » de 24 heures, une osmioréduction discrète apparaît dans la zone de différenciation sous-méristématique.

NOYAUX QUIESCENTS OU EN INTERPHASE

Au sortir immédiat du réactif, les noyaux quiescents paraissent inaltérés; ils semblent donc plus résistants que le chondriome et le cytoplasme; leur sort n'en est pas moins variable et dominé par la loi du tout ou rien : persistance de l'aspect normal ou altérations tardives irréversibles (pynose et caryorrhexie).

NOYAUX EN CINÈSE

a) *Quelques définitions.*

Avant de décrire l'action de l'eau benzinée dédoublée sur le noyau du Lupin, il nous paraît utile de résumer fort brièvement les divers processus mitoclasiques et d'adopter une terminologie conforme aux acquisitions les plus récentes.

Les substances mitoclasiques provoquent des anomalies mitotiques par défaut de fonctionnement du fuseau; l'inhibition fusoriale peut être partielle ou totale, le degré variant, 1^o avec l'espèce végétale ou animale étudiée, 2^o avec la nature, la dose et la durée d'action de la substance essayée (exemple : solution de colchicine à 1 p. 2000 agissant pendant 224 heures). Les modifications (stathmocinèses) résultant de l'inhibition plus ou moins complète du fuseau ont été fort bien décrites par MANGENOT, GARRIGUES, et surtout GAVAUDAN dans une note très récente (113) (1) :

1^{er} stade d'altération : rotation de l'axe fusorial (tropocinèse de GAVAUDAN, 110) avec troubles du cloisonnement (GAVAUDAN, 111, 113).

2^e stade : altération plus ou moins prononcée du fuseau anaphasique, induisant une anaphase anormale (pluripolarité, ponts chromosomiques par suite d'une disjonction incomplète des chromatides),

(1) Nous passons volontairement sous silence l'ancienne classification des poisons mitoclasiques (distinction des types *colchicinique* et *paradichlorobenzénique*); elle avait le grave défaut d'exclure toute notion de dose et de durée alors que, en fait, les diverses anomalies sont des manifestations plus ou moins accentuées d'un même phénomène (SIMONET et GUINOCHET, 245).

et cytodierèse anormale ou différée : GAVAUDAN propose pour ce type d'altération le terme de « mérostathmocinèse ».

3^e stade : Stathmocinèse vraie sans anaphase (inhibition complète du fuseau par perte de structure); ce 3^e stade fut découvert le premier (école de Bruxelles) pour une raison compréhensible : il est le plus facilement décelable. « Les chromosomes clivés..... provenant d'une prophase apparemment normale restent dispersés dans la cellule » (MANGENOT, 180); puis ils se rassemblent au centre de la cellule et « constituent non pas une plaque équatoriale, mais un amas chromosomique plus ou moins serré » (stathmométaphase) (GARRIGUES, 101, p. 268). Le phénomène peut s'arrêter là, à moins que les chromatides ne s'alvéolisent sur place (stathmotélophase) et reconstituent un noyau prophasique tétraploïde susceptible d'entrer à son tour en cinèse etc. (stathmocinèses itératives induisant la polyploïdie).

b) Action de l'eau benzinée saturée dédoublée sur les cinèses.

Un examen attentif des témoins nous permet de déceler la présence fréquente, chez le Lupin, d'anaphases obliques par rapport à la direction normale; la présence normale de « tropocinèses » nous fait donc renoncer à les considérer ici comme un test de l'action mitoclasique. Cette réserve étant faite, il est indéniable que l'eau benzinée dédoublée provoque des troubles mitotiques : parfois au sortir immédiat du réactif, parfois après retour, on observe des chromosomes en plages et des anaphases aberrantes avec ponts chromosomiques; ces figures anormales, du type « mérostathmocinétique » (2^e stade de GAVAUDAN), ne sont pas nombreuses chez le Lupin, à tel point qu'elles avaient échappé à nos premières observations (196); nous verrons plus loin que l'Ail est un matériel autrement favorable à l'étude des stathmocinèses benzéniques.

c) Statistiques des cinèses.

Elles nous ont permis de préciser la toxicité de l'eau benzinée dédoublée. Les diagrammes ont été établis sur le principe suivant extrêmement simple : sur l'axe des abscisses nous marquons 4 points *a*, *b*, *c*, *d*, correspondant respectivement aux principaux stades mitotiques : prophase, métaphase, anaphase, télophase. L'axe des ordonnées est défini par le nombre de prophases, métaphases, etc., rapporté à un total de 1000 cellules examinées. Chaque figure comprend deux

diagrammes, celui des témoins (en trait interrompu), celui des pièces benzinées (en trait plein).

Notons incidemment la proportion extrêmement faible des noyaux en cinèse chez le Lupin : à première vue ce fait s'accorde assez mal avec le développement rapide de la plantule dont la racine s'accroît d'environ 1 centimètre par jour (figure 11, page 90); mais on peut l'expliquer par la non simultanéité des divisions et la durée normalement très brève du cycle mitotique.

Au sortir immédiat de l'eau benzinée dédoublée, la statistique des cinèses est peu modifiée par rapport aux témoins (tableau 3).

TABLEAU 3

	Pro-phases	Méta-phases	Ana-phases	Télo-phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	5,1	5,8	6	4,2	21	1000
<i>Expérience</i>	6,5	6,5	5,5	4,6	23	1000

Les deux diagrammes mitotiques se superposent (figure 2).

DIAGRAMME MITOTIQUE DE L'EXPERIENCE 702

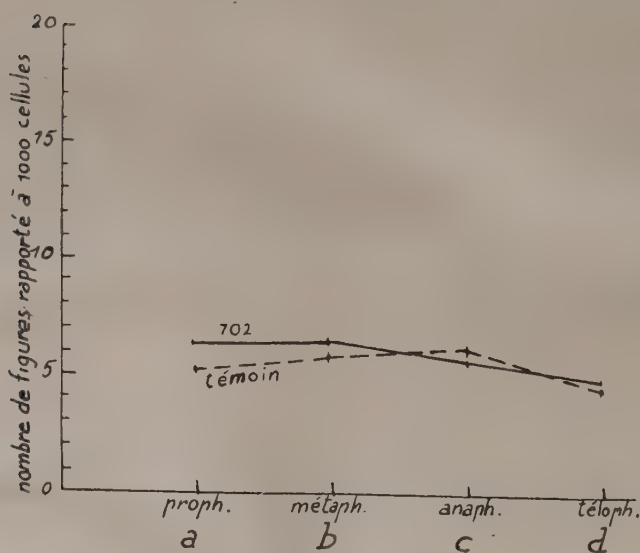


FIGURE 2

Eau benzinée dédoublée, 1 heure.

Diagramme mitotique au sortir immédiat du réactif.

Mais dans les «retours» de 24 heures, d'importantes différences apparaissent, exemple :

TABLEAU 4

	Pro-phases	Méta-phases	Ana-phases	Télo-phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	5,5	9,2	6,9	7,2	29	1000
<i>Expérience n° 1</i>	3,7	16	15,5	11,8	47	1000
<i>Expérience n° 2</i>	4,6	10,4	12	14,6	42	1000

Les prophase sont un peu moins nombreuses, mais les autres figures mitotiques sont en nette augmentation; nous avons le type de diagramme de la figure 3 :

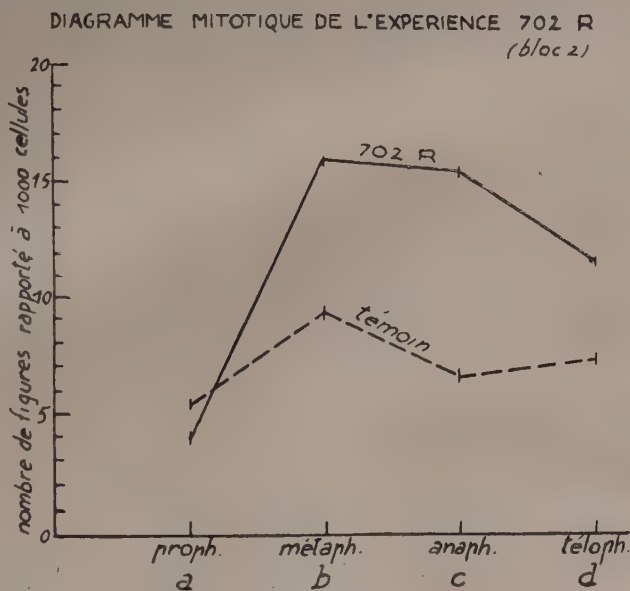


FIGURE 3

Eau benzinée dédoublée, 1 heure.

Diagramme mitotique après 24 heures de retour sur le milieu normal.

Il ne saurait être question ici d'une stimulation des cinèses: nous verrons en effet plus tard que l'eau benzinée dédoublée a toujours ralenti considérablement, sinon arrêté la croissance des radicules de

Lupin (pages 95 et 96); les statistiques semblent indiquer simplement une accumulation de figures du fait que les cinèses se déroulent plus lentement.

La statistique suivante effectuée, au cours d'une autre expérience, sur des « retours » de 24 heures, nous paraît démonstrative (ralentissement de la mitose à tous les stades, y compris la prophase) :

TABLEAU 5

	Pro-phases	Méta-phases	Ana-phases	Télo-phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	4,4	13,1	9,4	11,1	38	1000
<i>Expérience</i>	8,8	16,1	13,8	19,3	58	1000

Cette statistique est illustrée par le diagramme de la figure 4 :

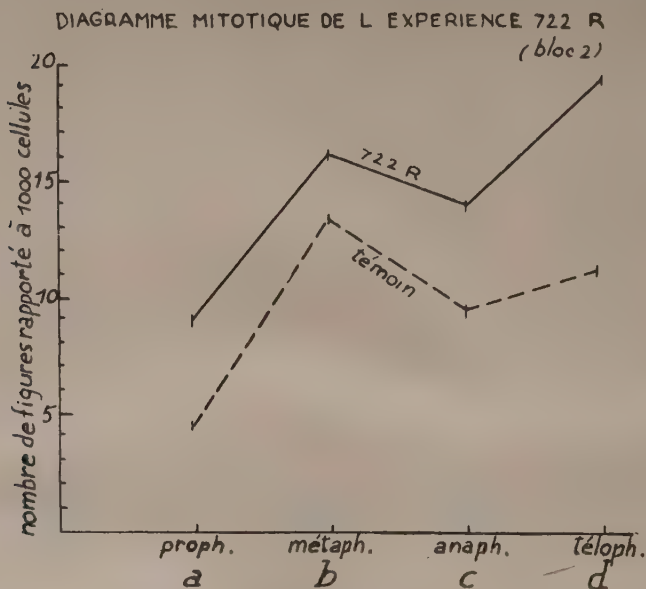


FIGURE 4

Eau benzinée dédoublée, 1 heure 30.

Diagramme mitotique après 24 heures de retour sur le milieu normal.

Ce diagramme nous montre la possibilité d'obtenir, après action d'une dose convenable de benzène, un *film au ralenti* (et quelque

peu altéré certes) de la mitose du Lupin; il ne s'agit pas là d'une simple spéculation théorique : les derniers instants de la prophase sont difficiles à saisir chez les témoins, en raison de leur déroulement extrêmement rapide; or il nous a été possible, grâce à l'eau benzinée dédoublée, d'observer une figure mitotique très fugace et apparemment normale : à un stade précédant immédiatement la prémétaphase (individualisation des prochromosomes en chromosomes encore disposés sans ordre dans l'aire nucléaire), les prochromosomes du Lupin sont reliés par un fin tractus sidérophile évoquant la présence d'un authentique système réticulé ; cette observation nous permet de confirmer les idées de DANGEARD sur la structure des noyaux euchromocentriques : « les noyaux euchromocentriques, dit cet auteur (71), apparaissent comme un cas limite de la structure réticulée typique, par suite du grand développement de la caryolympe et de la réduction concomitante du réseau. »

ÉTUDE CYTOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE D'UN CAS PARTICULIER D'ALTÉRATION PAR L'EAU BENZINÉE DÉDOUBLÉE

Les germinations de Lupin blanc qui, après avoir séjourné 1 heure à 1 h. 30 dans l'eau benzinée dédoublée, ont été replacées sur leur milieu habituel (sciure de bois humide), présentent vers la 24^e heure divers types morphologiques d'altération : ces derniers feront l'objet d'une étude détaillée ultérieure (page 94).



FIGURE 5

Extrémité radiculaire de *Lupinus albus* L. : amincissement subterminal provoqué par l'eau benzinée dédoublée

Cependant, par souci de clarté, nous allons décrire dès maintenant la plus curieuse des modifications : elle nous a paru mériter une étude topographique et cytologique spéciale.

Au sortir immédiat du réactif, les radicules ne présentent aucun signe extérieur d'altération; mais il est fréquent que, le lendemain, le sommet végétatif apparemment intact soit surmonté d'une région amincie (fig. 5) (page 33).

Une semaine plus tard, une zone filiforme d'aspect nécrotique sépare le méristème du reste de la plantule; la planche XXIII (cas n° 2, fig. a, où la zone nécrotique a été indiquée par une flèche) représente un aspect de ce type structural.

Voici les résultats de quelques observations effectuées sur des « retours » de 48 heures :

a) *Région apicale d'apparence intacte* (méristème proprement dit et cellules immédiatement voisines).

Le chondriome du méristème, granulisé au sortir immédiat de l'eau benzinée dédoublée, donne des signes très nets de retour à la normale : présence de chapelets moniliformes et de chondriocontes très fins.

Formant un singulier contraste avec le chondriome des cellules embryonnaires, le chondriome de la zone subterminale est très altéré : absence de formes filamenteuses, nombreuses sphérules. Nous avons là une nouvelle occasion de constater l'état de fragilisation des cellules subterminales.

b) *Région filiforme proprement dite, d'aspect nécrotique.*

Toutes les cellules du périblème sont autolysées et il est impossible d'en discerner le moindre détail cytologique. Par contre la zone du plérome est lisible : des cellules (où les chondriocontes sont rares et les grains nombreux) constituent un manchon autour d'un faisceau vasculaire central bien différencié lequel, de toute évidence, assure l'intercommunication du méristème et de la zone du collet.

c) *Région immédiatement au delà de la zone filiforme.*

Le développement paraît ici influencé par le voisinage du foyer nécrotique : on constate en effet une hyperplasie dans les couches corticales profondes et dans la zone péricyclo-endodermique (planche VI, microphotographie 1, c, grossissement 150); cette

cambiogenèse est analogue à celle qui a été décrite par MANGENOT et Mlle CARPENTIER (184) dans le Pois, après action du paraaminophénylsulfamide. Les cellules de la zone hyperplasiée offrent des anomalies mitotiques : cloisonnements aberrants, cellules binucléées (planche VI, microphotographie 2, grossissement 1200); nous assistons en somme à une néoformation de méristème avec mitoses anormales, dans un tissu différencié; or BUVAT a montré récemment (49) que les premiers stades de la *dédifférenciation* des tissus sont souvent accompagnés de troubles mitotiques.

Dans un autre ordre d'idées, signalons les travaux de BERTHON (43) (1): cet auteur a montré que, chez le Lupin, les radicelles se forment à partir du péricycle, de l'endoderme, et d'un certain nombre d'assises corticales; on conçoit que l'hyperactivité de ces assises, résultant d'un traumatisme mécanique ou « biologique », puisse aboutir à une stimulation des radicelles: nous avons effectivement montré que l'eau benzinée dédoublée stimule la production des radicelles (*page* 97).

4° Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée diluée au quart (durées : 1 heure à 1 h. 30).

Planche VII

Rappelons (*page* 21) que l'eau benzinée diluée au quart a une teneur en benzène comprise entre 0,04 et 0,05 gr. p. cent; cette dose, très inférieure au seuil toxique, n'a presque jamais provoqué de réactions nécrotiques dans les jeunes plantules.

CYTOPLASME ET CHONDRIOME

La structure du cytoplasme ne diffère pas de celle des témoins ayant séjourné dans l'eau pure.

Les modifications subies par le chondriome reflètent bien les activités respectives de l'eau et du benzène : c'est ainsi que, dans le plérome (planche VII, fig. a), on note la présence simultanée de vésicules (imputables à l'hypotonie) et de chondriomites (action granulisante du benzène). Dans le périblème où l'action du benzène prédo-

(1) Référence de seconde main (« Année Biologique », 1943, 19, p. 249).

mine (planche VII, fig *b*), le chondriome est entièrement granulisé. Toutes ces altérations sont réversibles : après 48 heures de retour sur le milieu normal, le chondriome a partout retrouvé sa structure typique.

Ainsi se trouve démontré, sur une seule et même coupe de méristème, le caractère de réversibilité systématique de deux types d'altération du chondriome : cavulation hypotonique, granulisation benzenique.

Nous avons particulièrement étudié les modalités de la fixation du chondriome, après action de l'eau benzinée diluée au quart (194); prenons un exemple : des plantules tenant lieu de témoins (lot *a*) sont immergées dans l'eau de source pendant une heure; un autre lot (lot *b*) est immergé pendant le même temps dans l'eau benzinée diluée au quart. Les durées optima de postchromisation ont été respectivement :

méristèmes du lot témoin <i>a</i>	15 jours
méristèmes du lot <i>b</i>	8 à 15 jours.

Ainsi donc, certains méristèmes du lot *b* (dont nous avons décrit ci-dessus les altérations) ont été perméabilisés par le benzène. Des faits du même ordre ont été observés sur des pièces qui, depuis 24 ou 48 heures, avaient été replacées dans leur milieu normal et *avaient parfaitement reconstitué leur chondriome*.

Enfin, nous avons été frappé de l'extrême facilité de régression (par l'alun de fer) de ces coupes, et de la grande étendue cellulaire où l'observation d'un chondriome bien différencié était possible : les colorations obtenues étaient d'une rare finesse et d'une perfection jamais égalée chez les témoins. On sait que la perméabilité est réglée par certains arrangements moléculaires des couches limitantes cellulaires : il semble que le benzène bouleverse plus ou moins ces édifices, entraînant par là-même des modifications de perméabilité; il semble aussi que la reconstitution de ces arrangements moléculaires peut avoir un certain retard sur le retour à la normale des structures fines (chondriome, etc.) observables au microscope.

Ainsi donc, les cellules fixées par le formol ont une perméabilité augmentée pour le bichromate de potassium, si elles ont préalablement subi l'action du benzène.

Nous reviendrons en temps voulu sur les propriétés perméabilisantes des solvants des lipides.

LIOPHANÉROSE

L'eau benzinée diluée au quart n'a jamais provoqué la ségrégation des lipides, immédiate ou tardive, dans les cellules du méristème.

NOYAUX QUIESCENTS OU EN INTERPHASE

Nous n'avons jamais observé de modifications immédiates ou tardives dans les noyaux quiescents.

NOYAUX EN CINÈSE

a) *Figures de cinèses.*

Au sortir immédiat du réactif, nous avons noté la présence assez exceptionnelle d'anaphases anormales avec ponts chromosomiques (mérostathmocinèses très frustes); sous cette réserve, les figures mitotiques du Lupin sont généralement respectées par l'eau benzinée diluée au quart.

b) *Statistiques.*

Celles-ci vont nous éclairer sur les modifications éventuelles du rythme des mitoses. L'eau benzinée diluée au quart ne trouble pas immédiatement le rythme mitotique chez le Lupin; la statistique suivante a été effectuée au sortir immédiat du réactif:

TABLEAU 6

	Pro- phases	Méta- phases	Ana- phases	Télo- phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	5,1	5,8	6	4,2	21	1000
<i>Expérience</i>	5,5	4,4	7,5	4,6	22	1000

Par contre, après remise en culture des pièces benzinées, le rythme mitotique peut subir des modifications:

TABLEAU 7

	Pro- phases	Méta- phases	Ana- phases	Télo- phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	4,4	13,1	9,4	11,1	38	1000
<i>Expérience</i>	6,8	18,1	12,5	14,5	52	1000

Cette statistique se résume dans le diagramme de la figure 6;

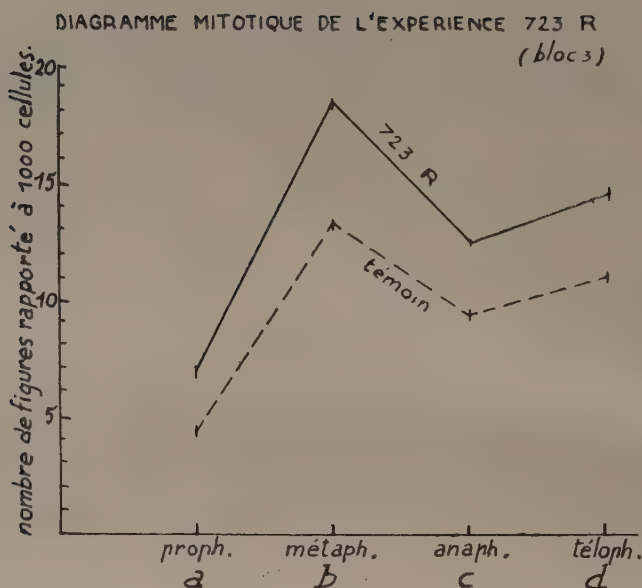


FIGURE 6

Eau benzinée diluée au quart, 1 heure 30.
Diagramme mitotique après 24 heures de retour sur le milieu normal.

Nous avons déjà rencontré ce type de diagramme (*page 32*); il est fort probable que l'accumulation de *toutes* les figures résulte d'un ralentissement général de la mitose; nous montrerons en effet (*fig. 17, page 105*) que l'eau benzinée diluée au quart retarde fréquemment la croissance de la racicule.

B. — ACTION DU BENZÈNE SUR LA CELLULE FORMOLÉE (RECHERCHES SUR LA STABILITÉ DES COMPLEXES LIPIDO-PROTIDIQUES DU CHONDRIOME DE LUPINUS ALBUS L.)

1° Position du Problème.

On sait que les éléments du chondriome sont constitués par des complexes lipido-protidiques (travaux classiques de REGAUD, POLICARD, FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER), et l'on admet géné-

ralement que la fraction lipidique de ces complexes est surtout constituée par des phosphatides (lécithines).

La fixation du chondriome a toujours été l'un des points les plus délicats de la cytologie; le formol employé seul est, en général, un mauvais fixateur mitochondrial car, dit-on, il n'insolubilise pas suffisamment les lipides et ne leur permet pas de résister aux réactifs employés pour l'inclusion: un mordantage oxydant complémentaire par le bichromate de potassium (REGAUD) ou par l'iodate de potassium (LISON) est nécessaire pour rendre insolubles et colorables les lipides du chondriome; selon FAURÉ-FREMIET, MAYER, RATHERY et SCHAEFFER (190), l'oxydation porterait sur la double liaison des acides gras non saturés constitutifs des phosphoaminolipides, avec formation d'acides hydroxylés peu solubles dans l'alcool et le xylol et capables de fixer énergiquement certains colorants.

En fait, la cytochimie du chondriome est encore assez mal connue, et le point de vue actuel sur sa labilité physico-chimique appelle certaines réserves. Les faits suivants nous indiquent que le problème de la stabilité des complexes lipido-protidiques mitochondriaux doit être examiné de plus près:

a) Il est exact que le formol seul donne, en général, de mauvaises fixations mitochondriales; ce postulat nous paraît toutefois trop rigide: PRENANT (observation rapportée par TURCHINI), EMBERGER (84), GIROUD (8) ont pu, dans certains cas, colorer le chondriome après une simple fixation formolée non suivie de mordantage au bichromate.

b) Toutes les fois que la postchromisation est nécessaire, il n'est pas du tout indispensable, d'après MARQUEZ, qu'elle *précède* les opérations de l'inclusion; cet auteur (185, 186) s'écarte en effet de l'idée généralement admise que « le chondriome est un élément labile sensible à l'action des solvants des corps gras, d'où le procédé classique de postchromisation des pièces avant déshydratation et passage par le toluène, dans le but de le fixer sous une forme insoluble et facilement colorable... » (loc. cit.). Après fixation par le liquide de Champy ou de Zenker sans acide acétique, MARQUEZ inclut les pièces et, en dernier lieu seulement, opère la *postchromisation sur coupes*; cet auteur trouve ainsi que le chondriome a fort bien supporté toutes les opérations de l'inclusion sans mordantage bichromaté préalable; il est certain qu'en pareille circonstance, le bichro-

mate de potassium n'a pas agi comme *conservateur*, mais comme *révélateur* d'un chondriome latent.

c) *L'action du benzène*, décrite dans les pages précédentes, a fait valoir la grande fragilité morphologique du chondriome; malgré la destruction de certains complexes lipido-protidiques (dont l'origine mitochondriale paraît certaine, *page 23*), le chondriome s'est toujours montré parfaitement colorable par la technique de Regaud, à condition que la durée optima de postchromisation fût respectée; la colorabilité remarquable du chondriome, à l'état normal comme à tout degré d'altération par le benzène, témoigne d'une certaine fixité de caractères physico-chimiques.

d) Enfin l'expérience suivante, en révélant certains aspects curieux de la postchromisation, nous laisse entrevoir la stabilité physico-chimique du chondriome : des méristèmes radiculaires de Lupin ayant germé à l'air sont fixés par le formol neutralisé (solution à 20 p. cent) pendant 5 jours, puis postchromés selon la technique de Dietrich-Parat :

Lot *a* : postchromisation de 24 heures (durée très courte) : la plupart des cellules ont un chondriome plus ou moins altéré mais toujours visible.

Lot *b* : postchromisation de 48 heures (durée un peu inférieure à l'optimum); réserve faite de quelques coupes bien colorées, on peut observer dans d'autres coupes une *éclipse* du chondriome: ce dernier n'a pu être coloré malgré tout le soin apporté à la régression de la laque ferrique.

Lot *c* : postchromisation de 72 heures (durée optima); toutes les coupes ont un chondriome typique, bien coloré.

Nous voyons donc qu'il peut exister une phase initiale transitoire de colorabilité du chondriome, correspondant à une durée de chromisation très courte, suivie d'une phase d'éclipse correspondant à une durée de chromisation beaucoup plus voisine de l'optimum. Cette expérience est instructive; elle nous indique en effet que les lipides mitochondriaux du lot *a* n'ont pas été dissous car le chondriome (pourtant très « sous-chromé ») est resté colorable; or si les lipides du lot *a* ont été conservés, ceux du lot *b* le sont à plus forte raison; la non colorabilité du chondriome constatée dans certaines pièces du lot *b* ne peut donc être raisonnablement attribuée à une solubili-

sation des lipides. Cette expérience, qui tient lieu de préliminaire aux recherches qui vont suivre, laisse entendre que les complexes lipido-protidiques mitochondriaux sont doués, contrairement à l'opinion classique, d'une certaine résistance vis-à-vis des réactifs employés pour l'inclusion : les fixateurs oxydants du type bichromate ne feraient que renforcer la stabilité naturelle de ces complexes.

On peut affirmer, sans risquer de graves erreurs, que les divers complexes [cénapses ⁽¹⁾] lipido-protidiques sont définis par leurs caractères de stabilité; leur structure pose un des problèmes les plus délicats (et non encore résolu) de la biochimie cellulaire.

En raison de la nature lipido-protidique du chondriome, il nous a paru intéressant de transposer dans le domaine de la cytologie certaines données techniques qui ont servi de base à MACHEBŒUF et ses élèves (20) pour l'étude des complexes lipido-protidiques du sérum sanguin : les biochimistes ont utilisé le sérum car ce dernier, « partie liquide d'un tissu primordial, le sang, peut être obtenu sans aucune manipulation chimique ou physique risquant de dénaturer ses constituants » (20, p. 20). Voici, très brièvement résumés, les principes qui guidèrent les recherches des biochimistes :

HOPPE-SEYLER le premier montra (72) que l'éther agissant seul ne peut séparer les lipides des protides sériques, et que, pour obtenir ce résultat, il fallait faire agir à la fois l'alcool et l'éther. La question fut reprise par de nombreux auteurs dont les travaux aboutirent à la méthode classique d'extraction des lipides, consistant à dénaturer préalablement les protides du sérum au moyen d'alcool chaud : alors seulement la totalité des lipides devient extractible par l'éther. HARDY et GARDINER (1910) et YOUNG (1922) (20, 4) montrent que l'extraction étherée de la majeure partie des lipides sériques devient possible quand le sérum refroidi à 0° est additionné d'alcool absolu refroidi à -10°.

MACHEBŒUF et ses élèves SANDOR, DELAGE, TAYEAU apportèrent, de 1928 à 1943, une contribution magistrale à l'étude de la stabilité et de la nature des liaisons lipido-protidiques (« *cénapses* » lipido-protidiques de MACHEBŒUF). Dès 1929 MACHEBŒUF (167, 168) était parvenu à extraire, à partir des sérumbumines, une fraction *hydrosoluble* extraordinairement riche en lipides, précipitant facilement en milieu acide (cénapses acido-précipitables, 171). En 1932 MACHEBŒUF et SANDOR montrent que l'éther pur, sans alcool, n'extraît que 1 à 5 p. cent des lipides totaux du sérum; puis ils étudient quantitativement l'extractibilité des lipides sériques par l'alcool à 95° à froid, en présence d'éther (169, 170); il existe, pour un sérum donné,

(1) Terme proposé par MACHEBŒUF.

une concentration optimale en alcool (10 à 20 p. cent) et un temps préparatoire d'extraction (durée minima de contact avec l'alcool, au dessous de laquelle l'extraction est nulle, au delà de laquelle une fraction déterminée des lipides totaux est invariablement extraite) : on peut ainsi débarrasser le sérum de près de la moitié de ses lipides; l'autre moitié, qui reste masquée, « présente une stabilité vraiment extraordinaire » (20, p. 54). D'après MACHEBŒUF et SANDOR, la délipidation par l'éther alcoolisé, effectuée à la température ordinaire, affecterait la quasi-totalité des sérumglobulines, de même que la fraction acido-précipitable des sérumalbumines (20, p. 54 et p. 60); par contre l'éther alcoolisé respecterait une grosse fraction des cénapses sérumalbuminiques (celles qui ne sont pas « acido-précipitables »). Mais ce travail fut critiqué par DELAGE qui reprit l'étude comparative de l'extraction alcool-éthérée des lipides liés aux sérumglobulines et aux sérumalbumines; cet auteur parvint à un résultat fort différent puisque, d'après lui, l'éther alcoolisé (agissant à froid) détruit une importante fraction (65 à 70 p. cent) des cénapses séro-albuminiques, mais respecte la quasi-totalité des cénapses globuliniques (73, et 4 p. 213).

Il est bien difficile de prendre position à l'égard de résultats aussi divergents : nous nous avouons, pour notre part, très impressionné par le travail de DELAGE.

Quoi qu'il en soit on peut dégager, de l'ensemble de ces recherches, les faits suivants : un traitement préalable par l'alcool chaud permet l'extraction de la quasi-totalité des lipides sériques; mais si l'on opère avec l'alcool froid (à la température ordinaire), l'extractibilité par l'éther n'est que partielle : « il existe, dit MACHEBŒUF, une différence très importante entre les états physico-chimiques des lipides extractibles et des lipides inextractibles par l'éther en présence de petites quantités d'alcool ». Notons toutefois que l'action de l'alcool n'est pas spécifique d'une substance lipodique ou d'une autre : qu'il s'agisse de cénapses globuliniques ou albuminiques, toutes renfermant des stérols, des phosphoaminolipides, des graisses neutres (20, p. 53 et p. 54).

Les travaux de DELAGE apportent d'autres faits intéressants. Cet auteur constate que l'étude reste à entreprendre de la fraction, infime certes (1 à 5 p. cent des lipides totaux), des lipides sériques directement extractibles par l'éther pur non additionné d'alcool; ces lipides ne sont pas à l'état libre (car le sérum est optiquement vide), mais paraissent engagés dans des cénapses hydrosolubles soit lipido-protidiques, soit lipido-lipidiques (4, p. 223) : le problème de l'existence de cénapses *ultralabiles* se trouve ainsi posé pour la première fois par un biochimiste.

DELAGE étudia (72) la destruction des cénapses par les homologues de l'alcool éthylique (alcools méthylique, propylique, butylique, isoamylique) et par l'acétone : « le phénomène, dit cet auteur, est toujours le même, et la quantité de lipides extraits à l'optimum est la même ».

Pour expliquer les stabilités relatives des cénapses, MACHEBŒUF et SANDOR (20, p. 60 et p. 61) admettent la possibilité de combinaisons chimiques et de simples liaisons physiques; dans les combinaisons chimiques, les lipides sont unis aux protides par des liaisons de valence : les cénapses qui en résultent sont très stables et très résistantes. Pour expliquer les liaisons physiques, MACHEBŒUF fait appel aux conceptions de LANGMUIR : les lipides extractibles à froid par l'éther alcoolisé seraient « solvatés » (c'est-à-dire *adsorbés*

par le jeu des affinités réciproques) sur les protides par leurs chaînes polyméthyléniques homologues (linéaires ou cycliques). Cette hypothèse imprima un nouvel essor à l'étude des cénapses; nous reprendrons cette question, fort intéressante du point de vue cytologique, dans la troisième partie de notre travail (*page* 122).

2° Recherches personnelles : Application cytologique des données de Machebœuf.

Nous avons entrepris d'analyser la stabilité des cénapses lipido-protidiques du cytoplasme et du chondriome dans le méristème du Lupin, puis dans celui de l'Ail.

Nous savons déjà que l'éther, le chloroforme (PICARD, 24), le benzène (voir ici-même, *page* 23) provoquent à eux seuls un démasquage notable des lipides cytoplasmiques et mitochondriaux : cette lipophanérose, maintes fois révélée par les imprégnations osmiques, indique l'existence de cénapses ultralabiles; sont-elles les seules présentes? Dans la négative, l'addition d'alcool éthylique suffit-elle à amener l'extraction totale des lipides?

Nous nous sommes proposé de déterminer, par une technique précise de délipidation ménagée empruntée aux biochimistes, la résistance à froid des cénapses cytoplasmiques et mitochondriales.

Du point de vue cytologique, le problème se pose d'une manière délicate en raison de l'instabilité morphologique du chondriome: le benzène, nous l'avons vu, apporte des modifications cytologiques importantes; l'alcool, de son côté, provoque la granulisation et la vésiculation du chondriome (ROLLEN, 25, p. 81). Dans la cellule traitée sans autre précaution par le benzène seul ou par le benzène alcoolisé, la topographie est bouleversée et on aura bien des difficultés à s'y reconnaître.

Il est évident que l'appréciation des modifications cytochimiques serait plus commode dans une cellule ayant conservé sa topographie générale : nous avons donc préalablement fixé la cellule par le formol.

L'extraction des lipides de la cellule formolée appelle, sans doute, certaines objections théoriques : à première vue il ne semblerait pas que les liaisons protides-lipides fussent sensiblement modifiées par la fixation formolée, le formol n'ayant aucune affinité pour les chaînes polyméthyléniques responsables de la « solvation » (adsorption), et se bornant à bloquer les groupements aminés des protides. Des

recherches récentes doivent nous inciter à plus de prudence : LE-PESCHKIN (157, p. 174) a constaté que le formol provoque une légère désagrégation du complexe colloïdal protoplasmique; LOISELEUR (163), LOISELEUR et PRUDHOMME (164), DERVICHIAN et MAGNAN (77) ont montré que le formol dénature sensiblement les protides : variation du pouvoir rotatoire, apparition de fluorescence en lumière de Wood (témoignage de cyclisations internes?).

Malgré ces réserves nous n'avons pas hésité à recourir à un procédé qui, d'ailleurs, n'est pas nouveau : REGAUD et POLICARD délipident divers tissus après fixation formolée (235, 232), MILOVITOV (204) effectue les réactions des protides sur le chondriome d'un *Saprolegnia* fixé par le formol.

Le problème de la fixation préalable étant réglé, nos pièces (méristèmes radiculaires de *Lupinus albus* L.) seront introduites pour une durée variable, soit dans l'eau saturée de benzène, soit dans l'eau benzinée alcoolisée; la délipidation achevée, on effectuera une postchromisation destinée à mordancer le chondriome dans l'état même où il se trouve au sortir du réactif benziné, et à rendre colorables les lipides qui ont échappé à la « désolvation » benzénique.

En somme, notre technique se ramène à un principe très simple : nous modifions le procédé IV A de Regaud par l'interposition d'une solution délipidante entre le bain de formol et le bain de bichromate.

1^{re} Série de recherches effectuées sur la cellule formolée : Délipidation benzénique en l'absence d'alcool éthylique.

Détail d'une expérience. — On fixe, dans la solution de formol à 20 p. cent neutralisée, 100 méristèmes radiculaires de Lupin blanc ayant germé depuis une semaine sur sciure humide; les pièces sont ensuite portées dans une solution aqueuse saturée de benzène: un premier lot y séjournera 1 heure 30; un deuxième lot y séjournera 6 heures, au cours desquelles on renouvellera l'eau benzinée une ou deux fois. Au sortir du liquide benziné, les pièces sont lavées à l'eau, puis postchromées par le procédé de Dietrich-Parat; le bain de bichromate sera renouvelé après la première demi-heure, afin de s'assurer de l'élimination totale du benzène; la durée du séjour dans le bichromate s'échelonnnera de 1 à 4 jours, les prélève-

ments étant effectués à la 24^e, 48^e, 72^e, 94^e heure. Les pièces sont ensuite lavées, incluses et colorées par les procédés habituels.

Par ailleurs, des témoins ont été fixés et colorés par le procédé classique de Regaud-Parat.

Résultats. — Dans les pièces chromées à l'optimum (48 à 72 heures), la sidérophilie du cytoplasme est atténuée par rapport aux témoins; le chondriome est généralement intact, très fin, et beaucoup moins empâté que le chondriome des témoins; certaines coupes sont fort belles: il semble que le benzène a opéré un véritable « décrassage » tout en accentuant l'individualisation du chondriome au sein du cytoplasme.

Le benzène n'a pas eu raison du chondriome formolé: un point est acquis, la majorité des lipides qui assurent la colorabilité du chondriome n'est pas extractible par le benzène *employé seul*. Ainsi, à côté des cénapses très labiles que révèlent les figures de lipophanérose observées après action du benzène sur la cellule vivante (*page 23*; et planche III, figures *b* et *c*), il existe dans le chondriome des cénapses résistantes, rappelant celles que MACHEBŒUF a étudiées dans le sérum sanguin.

Le benzène *additionné d'alcool* aura-t-il raison de ces cénapses? C'est le problème que nous allons aborder dans une deuxième série d'expériences.

2^e Série de recherches effectuées sur la cellule formolée : Délipidation benzénique en présence d'alcool éthylique.

CONDITIONS TECHNIQUES PRÉLIMINAIRES

Nous ferons appel une fois de plus aux travaux de MACHEBŒUF (20, 169, 170) qui nous apportent des données techniques précieuses concernant la forme d'utilisation et la durée d'action du solvant extractif.

a) *Forme d'utilisation du solvant extractif.*

MACHEBŒUF opère, avec l'éther, de la manière suivante: il verse 25 cm³ de sérum sanguin dans un entonnoir à décantation, puis il ajoute 25 cm³ d'éther additionné de 10 à 20 p. cent (en volume) d'alcool à 96°; après agitation modérée on laisse reposer. En fait on a affaire à un mélange ternaire hétérogène (selon l'expression des physiciens) sérum-alcool-éther, qui se sépare en deux solutions dites conjuguées: une couche inférieure constituée par une phase hydroalcoolique saturée d'éther, et une couche supérieure constituée par une phase éthérée saturée d'eau.

MACHEBŒUF fait la constatation capitale suivante : la phase éthérée sur-nageante n'est pas indispensable pour l'extraction des lipides sériques : « si l'on soustrait la phase éthérée, puis que l'on empêche l'évaporation de l'éther dissous dans le sérum alcoolisé en plaçant ce dernier dans un tube plein et bouché, on constate que les lipides qui auraient été extraits régulièrement se séparent malgré l'élimination de la phase éthérée, et viennent se rassembler à la surface en grosses gouttelettes » (20). L'éther dissous dans la phase hydroalcoolique est donc suffisant, dit MACHEBŒUF, pour que le phénomène évolue jusqu'à la libération des lipides : l'excès d'éther n'intervient pas. En résumé, il y a une condition nécessaire et suffisante pour la libération des lipides, c'est la saturation par l'éther de la phase hydroalcoolique; il nous faut retenir ce fait important.

Il eût été souhaitable de connaître la composition centésimale de cette phase hydroalcoolique saturée d'éther, ne fût-ce que pour savoir si la présence d'alcool permet la solubilisation d'un excès d'éther; le problème (en réalité fort compliqué du fait qu'on a affaire à un mélange ternaire hétérogène) a été abordé sommairement par DELAGE (4, p. 104): cet auteur a montré que l'addition d'alcool éthylique augmente la solubilité de l'éther dans l'eau; on serait tenté de croire que l'extractibilité de certains lipides en présence d'alcool provient de l'enrichissement en éther de la phase aqueuse, mais il n'en est rien : l'alcool isoamylique, qui ne modifie pas la solubilité de l'éther dans l'eau, agit exactement comme l'alcool éthylique, et DELAGE conclut que la solubilité de l'éther dans la phase aqueuse n'intervient pas dans la libération des lipides; l'alcool éthylique ou ses homologues interviendraient en diminuant les forces capillaires au niveau de la micelle lipido-protidique (4).

Pour notre part, nous avons préféré le *benzène* à l'éther : pour des raisons indiscutables, la substitution de l'un à l'autre dans le mélange ternaire n'offre aucun inconvénient pour l'extraction des lipides; le benzène présente en outre un sérieux avantage : le système ternaire hétérogène alcool éthylique-benzène-eau est aujourd'hui fort bien connu ⁽¹⁾; nous avons trouvé un exposé très complet de la question dans la thèse de BARBAUDY (1).

Nous inspirant de la formule de la solution extractive éthérée de MACHEBŒUF, nous avons préparé les deux formules suivantes :

Formule 1

(eau benzinée alcoolisée à 10 p. cent)

Eau distillée	50 cm ³
Alcool à 95°	5 cm ³
Benzène pur	50 cm ³

Formule 2

(eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent)

Eau distillée	50 cm ³
Alcool à 95°	10 cm ³
Benzène pur	50 cm ³

(1) Il a en effet une importance industrielle considérable (préparation de l'alcool absolu).

On mélange préalablement l'alcool et le benzène, puis on agite avec la quantité d'eau indiquée, dans un entonnoir à décantation; la couche inférieure (phase hydroalcoolique saturée de benzène) est d'abord trouble; elle s'éclaircit après un repos de 24 heures: conformément à ce que MACHEBŒUF nous a appris, *cette couche inférieure, décantée, nous servira de solvant extractif.*

Les travaux de BARBAUDY vont nous permettre de connaître approximativement la composition des solutions conjuguées résultant de la préparation des formules (1) et (2). Voici à titre d'exemple le résultat de l'étude, faite par BARBAUDY, d'un mélange ternaire dont la formule de départ se rapproche beaucoup de celle de notre formule (2) (eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent) :

Formule de départ (1, p. 97)

Alcool.....	10 cm ³
Benzène	45 cm ³
Eau	45 cm ³

Composition centésimale des solutions conjuguées :

couche supérieure			couche inférieure		
Alcool	Benzène	Eau	Alcool	Benzène	Eau
1,35	98,54	0,11	17,5	ε	82,5

Examinons la couche inférieure qui seule nous intéresse (phase hydroalcoolique saturée de benzène): *elle contient la presque totalité de l'alcool, et seulement des traces de benzène*; on en conclut que la présence d'alcool n'a pas sensiblement augmenté la solubilité du benzène dans l'eau. Le « décollement » éventuel des lipides mitochondriaux sera donc bien dû à la présence de l'alcool, et non pas à une augmentation de teneur en benzène.

b) *Durée de l'extraction alcool-benzinée.*

MACHEBŒUF (20, 169) s'est longuement étendu sur la question de durée. L'extraction des lipides est régie par la loi du tout ou rien; il existe une phase d'induction (1 heure 30 à 6 heures) au cours de laquelle l'extraction est pratiquement nulle, puis la vitesse s'accroît brusquement, et tout ce qui doit être extrait l'est alors très rapidement; nous devons donc échelonner convenablement les durées d'extraction; nos expériences ont porté sur les temps suivants : 1 heure 30, 6 heures, 24, 48, 72 heures.

MARCHE D'UNE EXPÉRIENCE

160 méristèmes radiculaires de Lupin blanc ayant germé pendant 5 jours sur milieu aérien humide, à la température de 24°, sont fixés pendant 6 jours dans la solution de formol à 20 p. cent neutralisée. Les pièces sont rapidement lavées à l'eau, puis divisées en plusieurs lots :

Le premier lot sera traité par l'eau benzinée alcoolisée à 10 p. cent (formule 1, page 46) pendant un temps variable, des prélèvements

devant être effectués à la 24^e heure (1^{re} série), à la 48^e heure (2^e série), à la 72^e heure (3^e série).

Le deuxième lot sera traité par l'eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent (formule 2, page 46), les prélèvements devant être effectués à des intervalles identiques à ceux du premier lot.

Le troisième lot, servant de témoin, séjournera dans l'eau distillée, les prélèvements devant être effectués aux mêmes intervalles.

Le traitement benziné nécessite certaines précautions : l'eau benzinée alcoolisée, dont la préparation a été indiquée à la page 47, devra être filtrée sur papier filtre humide; les pièces, soigneusement lavées à l'eau au sortir du formol puis égouttées, sont introduites avec 50 cm³ de solvant extractif dans des flacons émeri de 75 cm³ que l'on maintiendra fermés pendant toute la durée de l'expérience, afin d'éviter toute évaporation de benzène; au cours des expériences de longue durée, l'eau benzinée alcoolisée sera renouvelée toutes les 24 heures; enfin on procèdera à des agitations fréquentes.

Au sortir de la solution extractive, les pièces sont lavées à l'eau distillée pendant une demi-heure, puis postchromées selon Dietrich-Parat à la température de 40°; afin de s'assurer de l'élimination complète du benzène et de l'alcool, on renouvellera la solution saturée de bichromate de potassium après la première demi-heure. D'importantes variations de perméabilité sont à prévoir, selon la nature et la durée du traitement réservé à chaque série de pièces; aussi est-il indispensable d'échelonner la durée de leur séjour dans le bain de bichromate, où des prélèvements seront effectués à la 24^e heure, à la 48^e heure, à la 72^e heure.

L'expérience que nous venons de décrire a nécessité plus de 600 coupes.

RÉSULTATS DE LA DÉLIPIDATION CHEZ LUPINUS ALBUS L.

Le bain d'eau distillée (lot des témoins), intercalé entre le bain de formol et celui de bichromate, a une action perméabilisante que nous avons déjà signalée (réduction considérable de la durée optimale de postchromisation, page 18). Le benzène alcoolisé exerce de son côté, mais à une échelle plus réduite, une action perméabilisante à l'égard du bichromate de potassium; examinons par exemple les séries suivantes où l'on a intercalé, entre le formol et le bichromate,

d'une part un bain témoin d'eau distillée, d'autre part un bain d'eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent, la durée des bains intercalaires étant de 24 heures :

<i>Nature du bain intercalaire</i>	<i>Durée optima de postchromisation (à 40°)</i>
eau distillée	72 heures
eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent.....	48 heures.

Nous tenons à préciser qu'il s'agit là de moyennes déterminées par l'examen d'un grand nombre de coupes.

Les figures cytologiques sont intéressantes; nous examinerons successivement les pièces sous-chromées, les pièces chromées à l'optimum, les pièces surchromées :

a) pièces sous-chromées.

Le cytoplasme est en général mal fixé, très vacuolisé. Le chondriome, par contre, est bien coloré et on observe de nombreux filaments: il semble que le cytoplasme a plus souffert que le chondriome de l'insuffisance du mordantage bichromaté.

b) pièces chromées à l'optimum.

Les coupes sont généralement fort belles; le cytoplasme bien fixé a une sidérophilie atténuée par rapport aux témoins; le chondriome, absolument intact et d'une grande finesse, est remarquablement individualisé au sein du cytoplasme délipidé (planche VIII, fig. b). Les figures de témoins (planche VIII, fig. a) diffèrent des précédentes par leur cytoplasme plus sidérophile, leur chondriome plus empâté: la régression par l'alun de fer est, chez les témoins, beaucoup plus délicate.

Il résulte de cet examen *que le chondriome a parfaitement résisté à l'action prolongée du benzène alcoolisé*; est-ce à dire que tous les lipides mitochondriaux ont été respectés? Nous sommes persuadé qu'il n'en est rien, ayant montré antérieurement que l'eau benzinée saturée, agissant sur la cellule vivante, provoque une notable ségrégation lipidique (page 23); BEAUVÉRIE (36), CORNET (61) ont décrit l'action lipophanérogène de l'éther au niveau des plastes et des chondriosomes.

En somme deux séries de faits se superposent et suggèrent que le système lipido-protidique mitochondrial est hétérogène :

- 1° Présence de lipides très intimement liés aux protides, et parfaitement colorables par la technique de Regaud; la stabilité des liaisons, alcool-benzéno-résistantes, rappelle celle des cénapses globuliniques du sérum sanguin étudiées par DELAGE (page 42). Ce fait important nous a conduit à critiquer les célèbres techniques de CIACCIO pour la détection et la caractérisation des lipides (3^e Partie, page 138),
- 2° Présence de lipides faisant partie de cénapses instables et facilement dissociables par le benzène (page 23); ces lipides paraissent n'intervenir que pour une faible part dans les colorations mitochondriales du Lupin.

La diversité des cénapses n'est qu'un aspect physico-chimique de l'hétérogénéité chondriosomiale; nous en verrons d'autres.

c) Pièces surchromées.

Remarque préliminaire : il est toujours intéressant d'examiner des coupes surchromées, témoin le fait suivant qui est d'observation courante avec la technique de Regaud classique : des coupes chromées à l'optimum ont un chondriome normal avec chondriocontes typiques; dans certaines coupes surchromées, les formes filamenteuses ne sont plus visibles et ont fait place à des formes granuleuses; ce fait nous suggère que la forme granuleuse préexiste dans le chondrioconte *normal* : ce dernier aurait une différenciation linéaire exclusive de toute altération préalable, invisible à l'optimum de postchromisation, mais décelable dans des coupes surchromées.

Or la délipidation alcool-benzénique intercalée entre le bain de formol et le bain de bichromate de potassium révèle, d'une manière plus nette encore, la structure granuleuse du chondrioconte normal; dans l'exemple suivant, la délipidation intercalaire, effectuée avec l'eau alcoolisée à 20 p. cent (formule 2, page 46), a duré 72 heures; la postchromisation a été ainsi conduite (cf. le protocole d'expériences, pages 47 et 48) :

Série a. — Postchromisation de 24 heures à la température de 40° (*durée optima*).

Série b. — Postchromisation de 48 heures à la température de 40° (*durée excessive*).

Toutes les coupes de la série *a* ont un chondriome intact, riche en chondriocontes; par contre, dans certaines coupes (visiblement surchromées) de la série *b*, les chondriocontes sont très rares et sont remplacés par de nombreuses chaînettes de grains (chondriomites).

On ne saurait admettre que, les pièces de la série *a* étant intactes, celles de la série *b* étaient altérées au départ, puisque toutes ont germé dans les mêmes conditions et ont été fixées ensemble dans le formol; il est en outre exclu que la surchromisation puisse altérer de quelque manière le chondriome; enfin, si les grains des chondriomites étaient constitués par des lipides libres comme le croient certains cytologistes (24), on se demande comment ils auraient résisté à une délipidation de 72 heures !

Si donc la série *b* surchromée revêt une forme granuleuse, c'est que cette dernière était *préexistante* dans le chondrioconte normal.

Cette expérience nous indique simplement que le chondrioconte n'a pas une structure homogène dans toute sa longueur, et que ses divers éléments réagissent différemment (dans le temps) à l'action oxydante du bichromate de potassium; nous dirons pour simplifier que le chondrioconte a une structure granuleuse *masquée*: cette dernière, invisible à l'optimum de postchromisation, est révélée par la surchromisation.

Ainsi donc, la structure fine du chondrioconte *normal* témoigne d'une différenciation linéaire et structurale.

On peut alors se poser, non sans inquiétude, la question suivante : comment interpréter les figures de granulisation du chondriome si souvent décrites après action des narcotiques [PICARD (24), ROLLEN (25)], et en particulier du benzène (voir ici-même pages 22, 27, 35) sur la cellule vivante? Dans la cellule vivante soumise à l'action du benzène et des autres narcotiques, la structure granuleuse du chondrioconte se manifeste à tous les stades de la postchromisation; mais il est clair qu'une telle granulisation est l'accentuation d'une structure hétérogène préexistante dans le chondrioconte normal. Ces résultats, qui nous permettent d'étendre aux chondriocontes la structure granuleuse (aujourd'hui démontrée, 38, 99, 227, 271, 272) des chloroplastes, ont été récemment acceptés par M. le Professeur GUILLIERMOND (1); ils appellent une grande prudence dans l'inter-

(1) dans une lettre adressée le 15 janvier 1944 à notre Maître, M. le Professeur TURCHINI.

prétation des figures d'altération du chondriome provoquées par diverses substances et en particulier par les narcotiques; d'autre part ils nous conduisent à une conception du chondriomite assez nouvelle : les grains qui le constituent ne sont pas des lipides libérés du complexe lipidoprotidique initial (24, p. 59), mais représentent l'élément le plus stable et le plus résistant du chondrioconte; leur disposition linéaire rappelle celle des gènes dans le chromosome. En fait, et malgré leurs divergences histochimiques, chondrioconte et chromosome offrent une analogie structurale que nous tâcherons d'interpréter ultérieurement (3^e Partie, page 145).

3° Applications pratiques des résultats précédents.

LA SOI-DISANT FRAGILISATION DU CHONDRIOME DANS LES MÉRISTÈMES DE VÉGÉTAUX DÉVELOPPÉS A DES TEMPÉRATURES ÉLEVÉES

Nous montrerons, par l'exemple suivant, comment les faits peuvent se présenter dans la pratique :

Des méristèmes radiculaires de *Lupinus albus* L. ayant germé à l'air, au printemps, à la température ambiante de 18°, sont fixés dans le formol puis postchromés pendant trois semaines à la température ambiante (tableau I, page 8) : ils montrent un chondriome typique riche en chondriocontes. La même expérience est effectuée dans les mêmes conditions, mais cette fois en été, à la température ambiante de 25° : le chondriome apparaît granulisé, et certains cytologistes seraient tentés de conclure que la température élevée a fragilisé le chondriome; or il n'en est rien, le chondriome a fort bien supporté la température de 25°, et voici ce qui s'est passé :

Nous avons montré (page 7) que le mordantage bichromaté est régi par un coefficient de température élevé, compris entre 2 et 3; la durée de trois semaines, optima pour la postchromisation à 18°, est excessive à 25° : à 25° le chondriome, *surchromé*, révélera sa structure granuleuse.

Bien entendu, ces remarques ne s'appliquent pas aux altérations que subit le chondriome placé dans des conditions non physiologiques de température élevée, mais le problème est alors tout différent.

Quoi qu'il en soit il est impérieux, en technique mitochondriale, de postchromer par bains successifs, surtout dans l'expérimentation

cyto-physiologique; on conçoit que cette dernière soit fort ingrate, et l'interprétation n'est jamais exempte de causes d'erreur.

PERFECTIONNEMENT DE LA TECHNIQUE MITOCHONDRIALE DE REGAUD APPLIQUÉ AU CHONDRIOME DE LUPINUS ALBUS L.

Nous avons montré (*pages* 45 et 49) que la délipidation benzénique, intercalée entre le bain de formol et le bain de bichromate de potassium, assure un véritable « décrassage » du cytoplasme tout en respectant le chondriome: le cytoplasme normalement très sidérophile s'éclaircit, et les détails du chondriome sont d'une netteté jamais égalée chez les témoins. Pratiquement, la délipidation post-formolée accentue l'individualisation du chondriome et augmente ses chances de colorabilité: c'est ainsi qu'une série délipidée par l'eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent nous a donné, à l'optimum de postchromisation, 100 % de belles colorations; or le fait est assez rare dans la technique mitochondriale courante.

Dans ces conditions, nous croyons que la délipidation postformolée apporte un perfectionnement notable à la technique mitochondriale de Regaud.

Le mode opératoire suivant nous a valu les résultats les plus favorables chez *Lupinus albus* L. :

Après 5 jours de germination sur coton humide (à la température ambiante de 24°), des méristèmes radiculaires sont fixés pendant 6 jours dans une solution de formol à 20 p. cent neutralisée. Au sortir du formol, les pièces sont lavées à l'eau distillée pendant dix minutes, puis introduites, pour une durée de 48 heures, dans un flacon émeri de 75 cm³ contenant 50 cm³ d'eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent préparée selon la formule 2 de la *page* 46; la solution extractive sera renouvelée à la 24^e heure; le flacon sera maintenu hermétiquement bouché et sera fréquemment agité. Au sortir du réactif benziné, les pièces sont lavées à l'eau distillée pendant une demi-heure, puis postchromées pendant 24 à 48 heures à la température de 40°, dans une solution saturée de bichromate de potassium renouvelée après la première demi-heure: en général, une postchromisation de 24 heures est suffisante.

Le mode opératoire que nous venons de décrire n'est valable que pour les méristèmes radiculaires de *Lupinus albus* L.; nous verrons

plus tard que le cytoplasme d'*Allium sativum* L. est beaucoup plus sensible à la délipidation benzénique : il semble exister, pour chaque espèce végétale, au même titre qu'une durée optima de postchromisation, *une durée et des conditions optima de délipidation.*

§ III. — OBSERVATIONS EFFECTUÉES SUR LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES D'*ALLIUM SATIVUM* L.

A. — ACTION DU BENZÈNE SUR LA CELLULE VIVANTE

Les racines d'Ail étudiées se sont toujours développées dans l'eau de conduite (*page 5*) sans le moindre trouble cytologique ; le problème de l'hypotonie ne se posera pas ici du fait que les solutions benzinées auront agi sur des cellules *parfaitement adaptées au milieu aqueux*. En écartant les inconvénients du changement brusque de milieu, nous abordons un cas plus simple que celui, précédemment étudié (*page 20*), du Lupin ayant germé à l'air ; les moindres altérations cytologiques observées seront imputables au benzène seul : nous pourrions ainsi préciser certains points restés obscurs à la suite de nos recherches précédentes, notamment l'action du benzène sur le vacuome.

L'expérimentation proprement dite a été conduite comme précédemment (*page 21*) en immergeant les racines, pendant une heure, dans des solutions benzinées de concentrations variables (saturation, demi-saturation, quart de saturation) ; les pièces sont ensuite lavées à l'eau puis « mises en retour », c'est-à-dire replacées dans leur milieu aqueux initial.

La structure normale du méristème radiculaire d'Ail est la suivante (planches IX et XII) : le noyau est du type réticulé (planche XII, fig. *a*) ; le chondriome est facile à étudier dans la zone axiale du plérome où les chondriocontes, souvent très longs (planche IX, fig. *a*), sont extrêmement sensibles aux agents d'altération : cette sensibilité constitue un précieux élément d'étude. Dans les cellules isodiamétriques du périblème (planche IX, fig. *b*), le chondriome est trapu et souvent plus épais.

Le système vacuolaire est très réduit dans l'ensemble du méristème.

1^o Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée (durées : 1 heure à 1 heure 30).

Planches IX-X-XI-XII

Au sortir immédiat du réactif, les racines sont flaccides et ont perdu leur bel aspect nacré; l'odeur d'Ail est nettement plus sensible que chez les témoins mais disparaît rapidement. Après retour des pièces sur leur milieu normal, la zone subterminale devient filiforme; cette altération s'étend rapidement au méristème.

Voici le détail des modifications cytologiques observées :

CYTOPLASME

Les modifications sont comparables à celles qui ont été décrites chez le Lupin (page 21) : le cytoplasme dont l'aspect est grossièrement granuleux (planche X, fig. a, b, c) a une sidérophilie atténuée. La plasmolyse est inconstante et s'observe principalement dans les grandes cellules axiales du plérome.

CHONDRIOME

On observe, au sortir immédiat du réactif, de nombreux chondriomites (planche X, fig. a) dont les grains vont ultérieurement se disperser et parfois s'agglutiner en sphérules. Ces grains nous ont paru, chez *Allium sativum* L., quelque peu gonflés : il est en effet possible, en faisant agir le benzène à des doses plus faibles, de saisir la figure initiale extrêmement fine de la granulisation du chondriome (planche XIII, fig. a).

Après retour des pièces dans l'eau, les sphérules deviennent plus nombreuses (planche X, fig. c) et s'agglutinent souvent autour du noyau : le phénomène est particulièrement marqué dans les grandes cellules axiales du plérome (planche X, fig. b).

Tous ces processus rappellent ceux que nous avons observés chez le Lupin; il nous permettent de confirmer que le stade sphérulaire du chondriome est irréversible : ce stade reflète, comme PICARD (24) l'a montré puis nous même (page 22), la mort de la cellule provoquée par les narcotiques solvants.

LIPOPHANÉROSE

Le comportement de l'Ail présente, avec celui du Lupin (*page 23*), une frappante analogie. La planche XI résume les résultats de nos observations :

Planche XI, fig. *b* (cellule du plérome méristématique) : le noyau est entouré d'un halo légèrement osmiophile (comparer avec la figure témoin *a*).

Planche XI, fig. *c* (cellule du périblème méristématique) : ici, les taches grises sont dispersées dans toute l'aire cytoplasmique.

En somme la lipophanérose est très discrète dans les cellules méristématiques, au point qu'elle avait échappé à nos premières observations (*195*).

La zone *sous-méristématique* ⁽¹⁾ offre, par contre, une hypersensibilité manifeste (planche XI, fig. *d* : cellule axiale du plérome) : l'osmio-réduction est beaucoup plus intense; de grosses taches brunes circumnucléaires constituent un « décalque à l'osmium » des colorations mitochondriales de Regaud et d'Altmann [comparer les figures suivantes : planche X, fig. *b* (fixation et coloration de Regaud), et planche XI, fig. *d* (fixation de Flemming)]. Il est donc très probable que des lipides mitochondriaux ont pris part à la formation des inclusions osmioréductrices.

Signalons une légère divergence dans le comportement de l'Ail et du Lupin : les figures de lipophanérose, qui étaient transitoires chez le Lupin (*page 24*), persistent ici après « retour ».

NOYAUX QUIESCENTS OU EN INTERPHASE

Les noyaux au repos sont extrêmement sensibles à l'action de l'eau benzinée saturée; ils se contractent, le réseau se gonfle puis disparaît; les réactions nucléales de Feulgen, de Turchini, Castel et Kien montrent que la chromatine s'est répandue dans l'aire nucléaire; cette chromatolyse augmente considérablement l'affinité de la caryolympe pour l'hématoxyline ferrique (planche XII, fig. *b*).

Après retour des pièces sur leur milieu normal, les altérations persistent ou s'accroissent, des processus de caryorrhexie apparaissent; nous avons relevé un fait curieux dans certaines coupes

(1) Cf. la note au bas de la *page 23*.

très altérées (« retours » de 48 heures): alors que les colorations habituelles paraissent indiquer une autolyse complète avec perte de toute structure organisée, la réaction de Turchini, Castel et Kien est fortement positive au niveau des nucléoles à peine déformés, et nettement plus intense que chez les témoins; tout se passe comme si les processus autolytiques avaient favorisé la libération d'un *sucres nucléolaire* susceptible de réagir avec la fluorone.

Quoi qu'il en soit, les nucléoles présentent une grande stabilité morphologique et semblent contenir des nucléoprotéides d'une structure particulière.

NOYAUX EN CINÈSE

a) *Quelques réflexions préliminaires sur la mitose somatique d'Allium sativum L.*

La prophase va des premiers remaniements nucléaires à la fragmentation du spirème; à la fin de la prophase, les chromosomes sont individualisés, fissurés et, pendant un temps extrêmement court, restent disposés sans ordre dans l'aire nucléaire (stade très fugace de la prémétaphase); puis les chromosomes se recourbent en anse et prennent leur disposition rayonnante autour du fuseau (métaphase).

Nous avons figuré, sur la planche XII, deux aspects de la métaphase *normale*: la figure *c* est une vue longitudinale classique; la figure *d* est une vue oblique qu'il est bon de connaître, car elle peut donner lieu à certaines confusions: on ne doit pas oublier que les chromosomes d'*Allium sativum L.* sont très longs et font saillie au pourtour du fuseau; si la coupe n'est pas rigoureusement perpendiculaire à la plaque équatoriale, certains chromosomes paraissent désorientés et évoquent, à tort, des figures de stathmométaphase. En examinant attentivement la figure *d* de la planche XII, on s'aperçoit vite que les centromères sont très régulièrement répartis autour du fuseau et que les chromosomes clivés ont leur disposition rayonnante habituelle; à l'observation microscopique, un simple changement de mise au point suffit généralement pour juger de l'orientation régulière des anses chromosomiales.

L'anaphase (planche XII, fig. *f*) ne donne lieu à aucune ambiguïté: elle est généralement orientée suivant le grand axe du méris-

tème, mais on observe aussi quelques figures d'anaphases obliques dont il nous faudra tenir compte ultérieurement; rappelons en effet que, selon GAVAUDAN (110, 113), la rotation de l'axe fusorial (tropocinèse) est le premier stade d'altération par les substances mitoclasiques; la présence de tropocinèses normales dans l'Ail, si rares soient-elles, nous incite à la prudence dans l'utilisation de ce critère; nous avons déjà fait une constatation du même ordre au sujet du Lupin (page 29).

b) *Action mitoclasique de l'eau benzinée saturée.*

Les figures de cinèses sont profondément altérées: à la prémétaphase, les chromosomes fissurés tendent à s'agglutiner et n'ont qu'une faible tendance à former une plaque équatoriale régulière; les chromatides se séparent (planche XII, fig. e) et s'enchevêtrent en « pelote d'épingle ». Au stade de l'anaphase, le fuseau semble avoir presque totalement disparu: des chromosomes aberrants forment des ponts entre les deux extrémités du tonneau anaphasique (planche XII, fig. g).

c) *Statistiques des figures de cinèse.*

La détermination de toutes les figures de cinèse est délicate sinon impossible: c'est ainsi que, du fait de la pycnose, il est souvent très difficile de distinguer un noyau prophasique d'un noyau quiescent; aussi nous sommes-nous borné à reconnaître les métaphases et les anaphases.

TABLEAU 8

(statistique effectuée au sortir immédiat de l'eau benzinée saturée)

	Métaphases	Anaphases	Nombre total de cellules observées
<i>Témoin</i>	26	9	1000
<i>Expérience</i>	26	8	1000

Il n'y a aucune accumulation de métaphases bloquées, et le taux des anaphases est normal; à première vue, cette statistique s'accorde mal avec les graves désordres (du type colchicinique) constatés à la métaphase. SIMONET et GUINOCHET (244, 246), GAVAUDAN (113) ont montré que la dispersion chromosomique, image de l'altération fusoriale induite par la colchicine, implique la raréfaction et même

la disparition des anaphases; en effet, la colchicine exerce un blocage limité, essentiellement localisé au niveau des figures prémétaphasiques (SENTEIN, 26) ou métaphasiques ⁽¹⁾; mais elle n'empêche pas l'entrée en télophase des chromatides anaphasiques, de sorte que les *anaphases en cours* au moment de l'introduction du toxique peuvent poursuivre leur évolution normale: finalement les images anaphasiques vont se raréfier puis disparaître. Après action de la colchicine, l'accumulation des mitoses bloquées à la métaphase et la disparition des anaphases modifient profondément les pourcentages statistiques habituels des diverses figures mitotiques. *Rien de tel avec l'eau benzinée saturée*: l'action mitoclasique s'exerce bien à la prémétaphase et à la métaphase, mais elle est doublée d'une action toxique qui bloque tous les stades de la mitose; la cellule est tuée avant que les proportions respectives des diverses figures aient été modifiées; et le bilan statistique apparaît régulier (page 58).

En définitive l'eau benzinée saturée induit des *stathmocinèses abortives* analogues à celles qui ont été décrites par Mlle VILLARS (262) après action du thymol.

2° Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée dédoublée (durées : 1 heure à 1 h. 30).

Planches XIII et XIV

Au sortir immédiat du réactif, les racines paraissent en bon état, mais leur sort est variable: après retour dans l'eau, certaines gardent leur aspect normal, d'autres perdent leur éclat nacré et deviennent flaccides.

Les faits cytologiques sont comparables à ceux que nous avons constatés chez le Lupin; l'eau benzinée dédoublée permet de rester à la limite de la toxicité.

CYTOPLASME

L'eau benzinée dédoublée ne provoque pas de plasmolyse, mais elle fait apparaître de nombreuses vacuoles ⁽²⁾ dont la forme, extrê-

⁽¹⁾ Notons toutefois que la colchicine paraît aussi inhiber l'entrée en prophase, ainsi qu'il résulte des travaux de GARRIGUES (101), de VERNE et VILTER (261), et de SENTEIN (26, p. 180).

⁽²⁾ Observations effectuées dans le plérome méristématique, normalement pauvre en vacuoles.

mement régulière, caractérise la fluidité (planche XIII, fig. a); dans le cas présent la vacuolisation du cytoplasme est imputable au benzène seul et non pas à l'eau, car nous avons opéré sur des méristèmes d'Ail parfaitement adaptés au milieu hypotonique: il existe donc un processus de vacuolisation « benzénique », à ne pas confondre (malgré la similitude morphologique) avec la vacuolisation d'origine hypotonique décrite antérieurement (page 16). Les figures de vacuolisation « benzénique » représentent une forme (moins accentuée que la plasmolyse provoquée par l'eau benzinée saturée) de synérèse au sein du cytoplasme; elles sont identifiables aux figures classiques décrites par MATRUCHOT et MOLLIARD dans le cytoplasme des cellules soumises au gel: les constituants du complexe colloïdal protoplasmique se séparent en deux parties, une partie aqueuse entraînant avec elle des substances solubles (sels minéraux, tanins, etc.), une partie solide comprenant les micelles colloïdales lipido-protidiques. Il s'agit en somme d'une déshydratation du cytoplasme. Nous ferons ressortir ultérieurement l'importance de ce phénomène qui paraît en corrélation avec l'action mitoclasique du benzène (pages 149 et 150).

Le cytoplasme est moins sidérophile que celui des témoins et la différenciation du chondriome par l'alun de fer en est grandement facilitée.

Le cytoplasme des pièces replacées sur leur milieu habituel retrouve fréquemment sa structure normale.

CHONDRIOME

Nous avons particulièrement étudié les conditions de la postchromisation de *Allium sativum* L., après action de l'eau benzinée dédoublée (195, 197); à la suite de nombreuses observations nous avons constaté que la durée optima du mordantage bichromaté est, *en moyenne*, réduite d'un tiers par rapport aux témoins, exemple :

durée optima de postchromisation
(à la température ordinaire)

méristèmes témoins	8 jours (page 8)
méristèmes benzinés	6 jours

Les modifications structurales du chondriome se succèdent de la même manière que chez le Lupin (page 27): au sortir immédiat de

l'eau benzinée dédoublée, les formes filamenteuses ont disparu et fait place à des chondriomites (planche XIII, fig. a); les plastes sont également granulés. Après « retour » de 24 heures et de 48 heures sur le milieu normal, le sort du chondriome apparaît variable : sa destruction peut se poursuivre dans des conditions (page 55) sur lesquelles nous ne reviendrons pas ; mais très souvent les chondriomites réapparaissent (planche XIII fig. b), et nous avons pu observer des formes de restitution extrêmement fugaces constituées par des filaments moniliformes.

En somme, le chondriome d'*Allium sativum* L. s'est comporté comme celui de *Lupinus albus* L. : la granulisation du chondriome, provoquée par des doses faibles de benzène, est réversible.

LIOPHANÉROSE

Chez l'Ail, comme chez le Lupin (page 28), l'eau benzinée dédoublée ne démasque pas, en général, les lipides osmioréducteurs.

NOYAUX QUIESCENTS OU EN INTERPHASE

Nous retrouvons ici le caractère toxique limite de l'eau benzinée dédoublée. Au sortir immédiat du réactif, les noyaux au repos ne présentent pas d'altération visible (si l'on excepte certaines cellules du périlème où le réticulum apparaît quelque peu gonflé); la loi du tout ou rien règle le comportement ultérieur de ces noyaux; après « retours » de 24 heures et 48 heures, certains méristèmes devenus nécrotiques ont des figures de pycnose; mais, dans d'autres méristèmes, les noyaux ont surmonté l'intoxication et gardé leur structure réticulée normale.

NOYAUX EN CINÈSE

ACTION MITOCLASIQUE DE L'EAU BENZINÉE DÉDOUBLÉE

En dédoublant l'eau benzinée saturée nous sommes parvenu, dans une certaine mesure, à séparer l'action mitoclasique de l'action toxique.

a) Observations effectuées au sortir immédiat du réactif.

Les figures de prémétaphase sont anormalement nombreuses; il y a donc à ce stade, très fugace chez les témoins, une tendance au

blocage analogue à celle qui a été signalée par SENTEIN après action de la colchicine (26, pp. 180 à 185). Les figures de métaphase sont, comme le montrent les statistiques (voir plus loin *pages* 63 et 64), beaucoup plus nombreuses que chez les témoins, et la disposition des chromosomes en plaque équatoriale est souvent irrégulière; cette anomalie a des aspects variés : elle est parfois très fruste (planche XIV, fig. *a* : noter quelques chromatides errantes au centre de la plaque équatoriale); d'autres fois les chromatides se gonflent, s'enchevêtrent, formant des masses hyperchromatiques (planche XIV, fig. *c*) : de telles figures sont comparables aux stathmométaphases colchiciniques.

La raréfaction des anaphases est, nous le verrons, significative; les quelques anaphases subsistantes sont désorientées et comportent des ponts chromosomiques (planche XIV, fig. *b*); le « tonneau » anaphasique peut se dissocier par fragmentation de l'un des groupes ou des deux groupes chromosomiques, formant alors une figure pluripolaire (planche XIV, fig. *b* : anaphase tripolaire). Beaucoup plus rarement, nous avons observé des télophases anormales avec ponts chromosomiques (planche XIV, fig. *d*).

b) « Retours » de 24 heures et 48 heures ; observations effectuées dans les méristèmes qui ont échappé à la nécrose.

Bien des mitoses restent bloquées en fausses plaques équatoriales, mais jamais nous n'avons constaté de stathmotélophases (alvéolisation sur place des $4n$ chromatides groupées au centre de la cellule, voir *page* 29) susceptibles d'aboutir à la polyploidie; les signes de retour à la normale sont manifestes : en particulier les anaphases sont plus nombreuses et moins altérées; nous avons noté la fréquence, par rapport aux témoins (*page* 58), des anaphases obliques (tropocinèses de GAVAUDAN).

c) Statistiques.

En vue de définir avec précision le pouvoir mitoclasique de l'eau benzinée dédoublée sur les noyaux réticulés de l'Ail, nous avons recouru à la méthode des statistiques. Par la grande taille de ses chromosomes et la beauté de ses cinèses, l'Ail est particulièrement propice à ce genre de détermination. Par convention, et pour des raisons que l'on comprendra plus loin, nous avons groupé sous le nom de « prophase » les stades successifs qui vont jusqu'à la segmen-

tation du spirème *non comprise* ; nous avons réservé une place spéciale à la prémétaphase (spirème fragmenté), stade ultime de la prophase classique.

Voici les résultats d'une statistique effectuée au sortir immédiat de l'eau benzinée dédoublée :

TABLEAU 9

	Prophases	Préméta- phases	Méta- phases	Ana- phases	Télo- phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	233	6,3	11,6	7,1	32	290	1000
<i>Expérience</i>	215	15,6	29	1,4	9	269	1000

La statistique révèle une accumulation de prémétaphases et de métaphases, une rarefaction des anaphases et des télophases. Nous pouvons l'illustrer par la figure suivante où nous avons figuré, en abscisses, 5 points *a, b, c, d, e* (correspondant respectivement à la

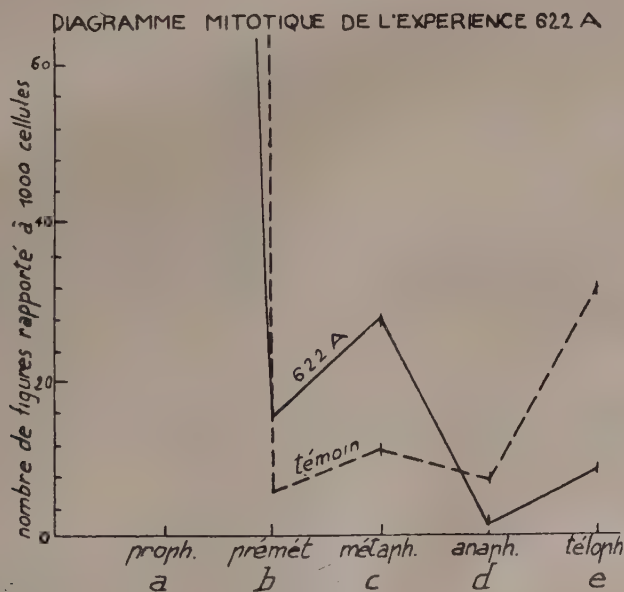


FIGURE 7

Eau benzinée dédoublée, 1 heure.

Diagramme mitotique au sortir immédiat du réactif.

prophase, prémétaphase, métaphase, anaphase, télophase), et, en ordonnées, le nombre de prophases, prémétaphases, etc. rapporté à un total de 1000 cellules examinées. Rappelons (*page* 29) que chaque figure comprend deux diagrammes, celui des témoins (en trait interrompu), celui des pièces benzínées (en trait plein).

Les prophases, extrêmement nombreuses dans le genre *Allium*, représentent le stade le plus long de la division, et ne figurent pas dans les diagrammes pour une raison graphique; d'ailleurs nous laisserons de côté la comparaison des prophases, car leur détermination est parfois ambiguë: le passage de l'état quiescent à l'état prophasique n'est pas toujours facile à saisir; d'autre part, GAVAUDAN (106) fait très justement remarquer que les vitesses de prophases semblent varier selon les régions de la coupe.

Une autre expérience a donné les résultats suivants (statistique effectuée au sortir immédiat de l'eau benzinée dédoublée):

TABLEAU 10

	Prophases	Prémé- phases	Mé- phases	Anaphases	Télo- phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	307	7	26	11	19	370	1000
<i>Expérience</i>	315	7,7	46	0	15,4	384	1000

Ici l'accumulation des métaphases coïncide avec la disparition totale des anaphases; la représentation graphique de la figure 8 (*page* 65) est tout à fait caractéristique de la stathmocinèse benzénique.

Voyons à présent les effets *tardifs* de l'eau benzinée dédoublée; la statistique suivante a été effectuée après 24 heures de retour:

TABLEAU 11

	Prophases	Prémé- phases	Mé- phases	Anaphases	Télo- phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	261	6,1	15,3	9,2	15,3	307	1000
<i>Expérience</i>	354	8,3	16,6	12,5	25	416	1000

DIAGRAMME MITOTIQUE DE L'EXPERIENCE 752 A

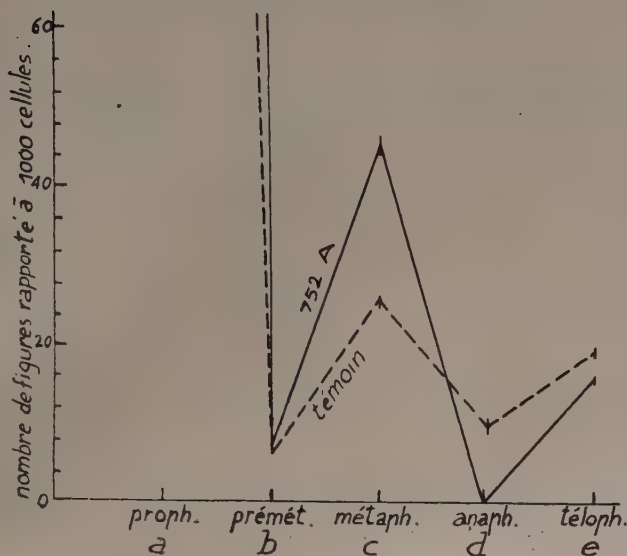


FIGURE 8. — Eau benzinée dédoublée, 1 heure 30. Diagramme mitotique au sortir immédiat du réactif.

DIAGRAMME MITOTIQUE DE L'EXPERIENCE 752 R.

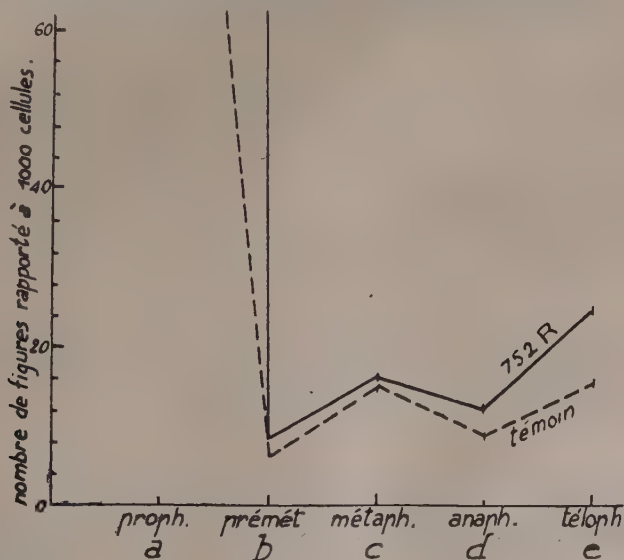


FIGURE 9. — Eau benzinée dédoublée, 1 heure 30. Diagramme mitotique après 24 heures de retour sur le milieu normal.

L'augmentation du taux des prophases dépasse la marge des erreurs expérimentales (page 64), mais son interprétation est fort délicate et appelle la plus grande prudence. *L'inhibition fusoriale est levée*, le taux des anaphases dépassant même celui des témoins. Le diagramme est représenté dans la figure 9, page 65.

A la lumière de ces quelques statistiques et des descriptions qui les ont précédées (pages 61 et 62), nous pouvons situer l'activité mitoclasique de l'eau benzinée dédoublée dans la classification de GAVAUDAN (page 28) : dans les conditions où nous avons opéré (durée d'action comprise entre 1 heure et 1 heure 30), *l'eau benzinée dédoublée provoque, chez Allium sativum L., des stathmocinèses vraies, avec disparition plus ou moins complète des anaphases (échelon 3 de Gavaudan)*. Ces stathmocinèses, bien que très frustes, sont comparables à celles qui sont induites par la colchicine. Après retour des racines sur leur milieu habituel, les troubles mitotiques s'estompent; des figures d'anaphases, plus ou moins normales (ponts chromosomiques), réapparaissent.

En définitive, nous n'avons jamais observé de stathmocinèses itératives (181) susceptibles d'aboutir à la polyploïdie : comparé à la colchicine, le benzène est un agent de déviation fort peu actif.

Nous ajouterons à ces observations la remarque suivante : l'action mitoclasique du benzène s'exerce plus intensément sur l'Ail que sur le Lupin (page 29); or ce fait est conforme à l'observation classique : les noyaux à prochromosomes résistent mieux que les noyaux réticulés aux substances mitoclasiques (voir à ce sujet une intéressante mise au point de GUINOCHET, 127, p. 216).

3^o Résultats des expériences effectuées avec l'eau benzinée saturée diluée au quart (durées : 1 heure à 1 h. 30).

Planche XV

Rappelons que la concentration de benzène est ici extrêmement faible (0,04 à 0,05 gr. p. cent).

Les extrémités radiculaires ont toujours gardé le même aspect extérieur que les témoins.

L'action toxique du benzène s'était jusqu'à présent manifestée de manière *irréversible* (eau benzinée saturée), ou *irrégulièrement réversible* (eau benzinée dédoublée); avec l'eau benzinée diluée au quart, nous avons observé la *réversibilité quasi constante* des altérations cytologiques.

CYTOPLASME ET CHONDRIOME

Le *cytoplasme* nous a toujours paru normal.

Au sortir immédiat du réactif, le *chondriome* est granulisé (planche XV, fig. *a* : cellule axiale du plérome); les figures de granulisation, très fines, ne diffèrent pas morphologiquement de celles que nous avons décrites au sortir de l'eau benzinée dédoublée; obtenues avec une dose de benzène aussi faible, elles représentent sans nul doute le stade initial des altérations visibles.

Après retour des racines sur leur milieu normal on voit réapparaître, de manière presque constante, le chondriome typique (planche XV, fig. *b*), avec des formes de restitution intermédiaires, très fugaces, que nous eûmes déjà l'occasion de décrire (chapelets moniliformes dont les grains sont reliés par un fin tractus sidérophile).

LIOPHANÉROSE

Nous n'avons observé aucun démasquage, immédiat ou tardif, des lipides osmio-réducteurs.

NOYAUX QUIESCENTS

Ceux-ci n'ont jamais témoigné de la moindre altération immédiate ou tardive.

NOYAUX EN CINÈSE

Action mitoclasique de l'eau benzinée diluée au quart.

On constate, au sortir immédiat du réactif, *quelques* figures typiques de stathmocinèses : métaphases bloquées en fausse plaque équatoriale, rares anaphases aberrantes avec ponts chromosomiques.

Voici les résultats d'une statistique :

TABLEAU 12

	Prophases	Prémé- phases	Mé- phases	Anaphases	Télo- phases	Nombre total de mitoses	Nombre total de cellules observées
<i>Témoins</i>	304	16	24	20	36	400	1000
<i>Expérience</i>	312	20,8	45,8	8,3	29,2	416	1000

Nous avons le diagramme suivant :

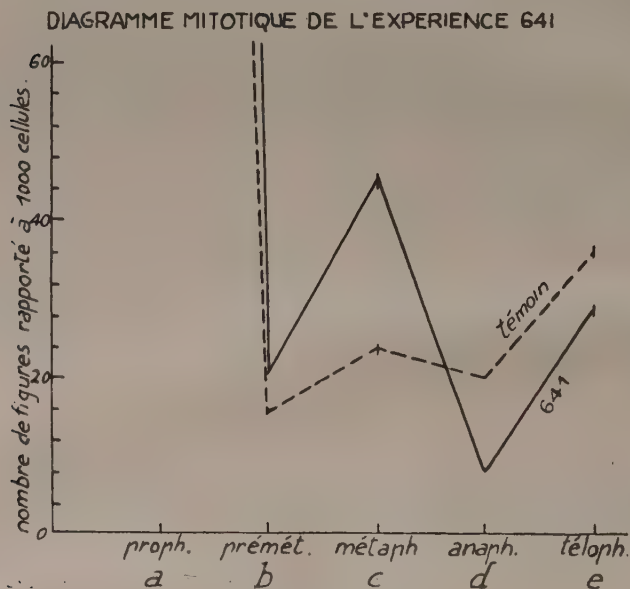


FIGURE 10

Eau benzinée diluée au quart (1 heure).
Diagramme mitotique au sortir immédiat du réactif.

Il s'agit, en l'occurrence, d'un type très fruste de « mérostathmo-cinèses » (page 29).

Après retour des racines sur leur milieu normal tout rentre dans l'ordre : les troubles mitotiques provoqués par l'eau benzinée diluée au quart sont réversibles.

B. — ACTION DU BENZÈNE SUR LA CELLULE
FORMOLÉE D'*ALLIUM SATIVUM* L. (RECHERCHES SUR
LA STABILITÉ DES COMPLEXES LIPIDO-PROTIDIQUES
DU CYTOPLASME ET DU CHONDRIOME)

Planche XVI

La délipidation postformolée du méristème radiculaire de *Lupinus albus* L. nous avait procuré d'utiles renseignements sur la stabilité biochimique et l'hétérogénéité structurale des chondriosomes (pages 38 à 54). Ces recherches ont été étendues à l'*Allium sativum* L. dans des conditions expérimentales analogues, et nous ne reviendrons pas sur les principes de notre technique inspirée des travaux de MACHEBŒUF; rappelons seulement que nous modifions le procédé IV A de Regaud par l'interposition d'une solution délipidante (benzène en solution aqueuse ou faiblement alcoolisée) entre le bain de formol et le bain de bichromate (page 44).

1^o Première série de recherches effectuées sur la cellule
formolée d'*Allium sativum* L. : Délipidation benzénique en
l'absence d'alcool éthylique.

Détail d'une expérience (197).— Des méristèmes radiculaires d'Ail sont fixés pendant 6 jours dans une solution de formol à 20 p. cent neutralisée; au sortir du formol, ils sont lavés à l'eau distillée pendant 10 minutes et introduits, pour une durée de 1 heure 30, dans une solution aqueuse saturée de benzène renouvelée deux fois et fréquemment agitée; les pièces sont ensuite lavées à l'eau distillée (renouvelée deux fois) pendant une demi-heure, puis portées dans une solution de bichromate de potassium à 3 p. cent (renouvelée deux fois). La postchromisation est faite à froid, selon la méthode de Regaud classique, en échelonnant les durées de 4 à 10 jours.

RÉSULTATS

(Observations effectuées dans les cellules axiales du plérôme)

a) Coupes chromées à l'optimum.

L'optimum de postchromisation se situe entre 6 et 8 jours. Le cytoplasme a une sidérophilie atténuée par rapport aux témoins;

le chondriome est intact (planche XVI, fig. a) : certaines coupes sont fort belles, d'une finesse inégalée chez les témoins.

b) Coupes surchromées.

Dans certaines de ces dernières les chondriocentes ont fait place à des chondriomites; ce fait complète nos observations antérieures effectuées chez le Lupin (page 50), et confirme la différenciation granulaire du chondriocente normal : le chondriocente a une structure hétérogène qui reste masquée dans les coupes chromées à l'optimum, mais que révèle parfois l'action oxydante prolongée du bichromate de potassium.

2° Deuxième série de recherches effectuées sur la cellule formolée d'*Allium sativum* L. : Délipidation benzénique en présence d'alcool éthylique.

Des extrémités radiculaires d'Ail ayant germé dans l'eau (page 5), à la température moyenne de 19°, sont fixées pendant 6 jours dans une solution de formol à 20 p. cent neutralisée, et, au sortir du formol, lavées à l'eau distillée pendant 10 minutes. Puis nous avons suivi presque point par point les phases opératoires, précédemment décrites, de la délipidation du Lupin (page 47) : les pièces seront traitées par l'eau benzinée alcoolisée à 10 p. cent (formule 1, page 46), ou à 20 p. cent (formule 2, page 46) pendant un temps variable : 24, 48, 72 heures. Un lot de témoins séjournera parallèlement dans l'eau distillée.

Une seule différence avec le Lupin : la postchromisation est conduite à froid selon le procédé original de Regaud et échelonnée de 4 à 10 jours.

RÉSULTATS DE LA DÉLIPIDATION PAR LE BENZÈNE ALCOOLISÉ

Notons tout d'abord que, en l'occurrence, l'interposition d'un bain d'eau distillée entre le bain de formol et celui de bichromate (lot des *témoins*) n'a absolument rien changé aux conditions habituelles de la postchromisation : avec ou sans bain d'eau intercalaire, la durée optima de postchromisation a été de 8 jours. Tout autre était le cas du Lupin précédemment étudié; la raison de cette

divergence est fort simple : nous avons montré que le milieu aqueux perméabilise la cellule à l'égard du bichromate de potassium ; l'imbibition aqueuse peut *précéder* (page 15) ou *suivre* (page 17) la fixation formolée, le résultat est le même, or : les racines de Lupin s'étant développées à l'air, le traitement aqueux postformolé déclenchait les processus d'imbibition et de perméabilisation antérieurement décrits (page 17) ; les racines d'Ail se sont développées dans l'eau : ici les effets de l'imbibition aqueuse ont eu tout le temps de se manifester au cours de la germination, la perméabilité cellulaire a atteint son maximum avant la fixation formolée, et, de ce fait, le traitement aqueux postformolé ne peut plus influencer la pénétration du bichromate.

Ces remarques préliminaires étant faites, nous allons analyser les résultats de la délipidation alcool-benzénique ; le comportement de l'Ail est moins univoque que celui du Lupin : il est lié 1° à la teneur en alcool du réactif benziné, 2° à la durée de la délipidation.

Les observations suivantes ont été effectuées dans les cellules axiales du plérome chromées à l'optimum :

a) *action de l'eau benzinée alcoolisée à 10 p. cent.*

1° délipidation de 24 heures : le cytoplasme est quelque peu vacuolisé, mais le chondriome est intact ;

2° délipidations de 48 et 72 heures : les cellules sont souvent contractées ; le cytoplasme est très vacuolisé. La délipidation prolongée du méristème d'Ail a des conséquences curieuses : la qualité des colorations est extrêmement variable dans les diverses coupes d'un même étalement ; certaines montrent un fort beau chondriome (planche XVI, fig. b), mais d'autres, très difficilement régressibles, sont exécrables ; dans les cas les plus défavorables, cette opposition se manifeste entre les diverses cellules d'une même coupe, rendant l'interprétation très délicate. Pareil comportement suggère une explication : le chondriome de *certaines* cellules étant normal et bien coloré, il est certain que la fixation et les opérations de l'inclusion ont été convenablement conduites et ne peuvent être incriminées ; nous croyons pour notre part que le cytoplasme de l'Ail, délipidé à l'excès, est devenu très hydrophile, et que les cellules ont tendance à absorber de l'eau au moment de l'étalement

des coupes : la température d'étalement n'étant jamais inférieure à 40°, certaines cellules seront « cuites » selon l'expression des cytologistes.

Quoi qu'il en soit, un fait important subsiste : dans les conditions décrites, il nous fut toujours possible d'observer un certain nombre de cellules dont le chondriome était normal.

b) *Action de l'eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent.*

Cette solution, rappelons-le (*page 47*), ne diffère de la précédente que par sa concentration alcoolique plus grande, la teneur en benzène étant pratiquement inchangée.

L'action toxique de l'alcool est manifeste : la vacuolisation du cytoplasme s'accuse; plus la durée de la délipidation a été longue, plus la laque ferrique est tenace et sa régression difficile. Les colorations sont très irrégulières; dans certaines cellules le chondriome est normal, dans d'autres cellules il est très altéré (*planche XVI, fig. c*).

3° Synthèse des résultats de la délipidation postformolée chez *Allium sativum* L.

Action de courte durée; perfectionnement de la technique mitochondriale de Regaud appliqué au méristème radiculaire de l'Ail.

La délipidation postformolée est, à son début, très avantageuse : comparativement aux témoins, le cytoplasme moins sidérophile semble « décrassé », le chondriome est moins empâté et ses détails, extrêmement fins, sont plus faciles à étudier (197).

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'eau benzinée saturée, agissant pendant 1 heure 30; le mode opératoire, tel qu'il est décrit à la *page 69*, constitue un perfectionnement de la fixation de Regaud appliquée au méristème radiculaire d'*Allium sativum* L. : on peut remarquer que les conditions optima de la délipidation du Lupin (*page 53*) étaient fort différentes.

Action de longue durée :

Les résultats de la délipidation prolongée (par le benzène alcoolisé) de la cellule formolée d'*Allium sativum* L. doivent être examinés sous les aspects cytoplasmique et mitochondrial :

- 1^o fragilité du cytoplasme de l'Ail : ce dernier est beaucoup moins résistant que celui du Lupin, se rétracte et se vacuolise; l'action toxique paraît surtout imputable à l'alcool.
- 2^o Stabilité biochimique du chondriome : l'intégrité morphologique du chondriome est plus ou moins respectée, mais il est certain que le chondriome *n'est pas dissous*; si nous admettons, avec la grande majorité des cytologistes, que la colorabilité des chondriosomes est due à des lipides, il nous faut reconnaître l'inextractibilité de ces lipides par le benzène alcoolisé : en d'autres termes, le chondriome renferme des cénapses lipido-protidiques d'une extraordinaire stabilité.

Il est intéressant de comparer nos résultats à ceux qui furent observés par REGAUD, il y a 35 ans, sur un matériel très différent du nôtre (234, 235, 232). Rappelons (page 44) que REGAUD fut le premier (avec POLICARD) à effectuer la délipidation postformolée des tissus (épithélium séminal du Rat); or, d'après cet auteur, un traitement par l'alcool à 90° intercalé entre le formol et le bichromate a pour effet de dissoudre « la substance caractéristique » des mitochondries de l'épithélium séminal, et celles-ci ne sont plus colorables.

En définitive, nos conclusions sont opposées à celles de REGAUD : faut-il attribuer cette discordance à des conditions expérimentales différentes, ou bien à la diversité physico-chimique des espèces cellulaires (la stabilité des complexes lipido-protidiques variant d'une espèce à l'autre)? Nous discuterons plus tard de ce nouvel aspect de la spécificité cellulaire.

CHAPITRE QUATRIÈME

OBSERVATIONS ET COLORATIONS VITALES

En vue de contrôler et de compléter les résultats obtenus par les diverses méthodes de fixation, nous avons recouru à l'observation vitale de quelques objets faciles à étudier : 1^o une Spirogyre, 2^o la feuille d'*Elodea canadensis* Rich., 3^o les cellules épidermiques des écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L.

§ I. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR UNE SPIROGYRE

Les Spirogyres peuvent être examinées dans l'eau de source, qui est leur milieu naturel; elles constituent un matériel de choix pour l'étude de la plasmolyse [GELLHORN et REGNIER (7, p. 111); Fr. WEBER (267, 268)].

L'espèce que nous avons utilisée est une assez grosse Spirogyre, du type *Sp. longata*, formée de cellules allongées à protoplasme hyalin, avec un énorme chromatophore spiralé porteur de pyrénoides (corpuscules protidiques couronnés de grains d'amidon).

Action de l'eau benzinée saturée.

Quelques filaments sont placés entre lame et lamelle et perfusés au moyen d'une solution saturée de benzène. L'observation est faite avec l'oculaire 8 et l'objectif à immersion 1/15.

Après 5 minutes de perfusion on observe les premiers signes de la plasmolyse; le cytoplasme se décolle au niveau des cloisons transversales de l'article, ses limites deviennent sinueuses et très réfringentes; puis le décollement s'étend aux parois longitudinales.

Nous confirmons ainsi, par l'observation vitale, l'action plasmolytante de l'eau benzinée saturée, déjà décrite après fixation de Regaud (pages 22 et 55).

On observe, d'autre part, l'altération du chromatophore : les pyrénoides sont de moins en moins reconnaissables; après 35 minutes

de perfusion, des grains d'amidon se détachent et se dispersent dans le cytoplasme.

§ II. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR ELODEA CANADENSIS RICH.

L'Elodée du Canada est précieuse pour les recherches vitales; cette petite plante aquatique ne demande aucun milieu spécial d'observation; l'épaisseur du tissu étant faible (il ne comprend, en bordure du limbe, que deux assises de cellules), on peut l'étudier directement, sans coupe. Nombreux sont les cytologistes qui utilisèrent ce matériel; citons les travaux de HARVEY (129), Fr. WEBER (267, 268), MODER (208), LEPESCHKIN (152), GUILLIERMOND (8), GUILLIERMOND et GAUTHERET (14), Mme LOURAU-DESSUS (166), BEAUVÉRIE et CORNET (39). Le dernier travail en date est, à notre connaissance, celui de Mlle BAZIN (2) qui apporte une contribution importante à la technique d'utilisation de l'Elodée.

Ayant eu la bonne fortune de travailler à proximité immédiate du magnifique jardin botanique de Montpellier, nous avons toujours pu opérer sur des plantes extrêmement fraîches.

Nos recherches ont porté sur la feuille isolée ou sur la bouture entière; les conditions techniques sont, dans chaque cas, très particulières.

A. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR LA FEUILLE ISOLÉE D'ELODEA CANADENSIS RICH.

D'entrée il nous faut signaler l'inconvénient majeur de cette méthode: les feuilles étant prélevées soit par section effectuée dans le pôle proximal, soit par arrachement au moyen d'une pince, il en résulte des lésions cellulaires locales qui modifient les caractères de colorabilité et de perméabilité des cellules lésées; mais il y a un inconvénient plus grave: la zone de lésion est un lieu d'absorption préférentielle à laquelle participent les cellules *saines adjacentes*; les caractères de perméabilité du tissu tout entier se trouvent ainsi faussés. Ces réserves étant faites, voici le détail d'une de nos expériences.

ÉTUDE VITALE DE L'ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE

Les jeunes feuilles prélevées à la base du bourgeon terminal se prêtent particulièrement bien à l'observation; on y distingue deux zones : celle de la pointe (pôle distal), très verte, constituée par des cellules adultes pourvues de gros chloroplastes; d'autre part la zone basale méristématique (pôle proximal) d'un vert très pâle : les cellules de la zone basale renferment de nombreux chondriosomes, souvent allongés, légèrement teintés de vert; elles sont faciles à étudier en bordure du limbe où elles présentent de beaux courants cytoplasmiques.

Les jeunes feuilles sont placées entre lame et lamelle et perfusées avec l'eau benzinée saturée. Voici les résultats de nos observations effectuées avec l'oculaire 8 et l'objectif 1/15 :

a) *La plasmolyse* est inconstante, beaucoup moins caractéristique que dans la Spirogyre; elle a pu être observée principalement dans les cellules de bordure, après perfusion prolongée (4 heures); les cellules d'Elodée présentent une inégale sensibilité à la plasmolyse, qui a été maintes fois décrite (269, 208, 2).

b) *Les mouvements de cyclose* s'arrêtent rapidement (après 1 à 4 minutes de perfusion benzinée); ils réapparaissent parfois, mais la reprise des courants cytoplasmiques n'a qu'une faible durée, et précède l'arrêt définitif. Nos observations sont analogues à celles de Mme LOURAU-DESSUS (166) qui étudia, en 1928, l'action des vapeurs de benzène.

c) Nous avons étudié avec un soin particulier le comportement des chondriocentes verts, qu'on peut assimiler à de très jeunes plastes : nous n'avons noté aucune altération de ces éléments après une perfusion de 4 heures. PICARD (24, p. 48 et 49) a déjà montré que les chloroplastes, et les formes d'évolution intermédiaires, présentent une grande résistance à l'action des narcotiques.

B. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR LA BOUTURE ENTIÈRE D'ELODEA CANADENSIS RICH.

L'utilisation de la bouture entière présente un avantage : les tissus ne subissent aucune manipulation avant l'observation finale.

Nos recherches ont eu un objectif limité ; on sait que l'action des narcotiques solvants sur la perméabilité cellulaire a fait l'objet de nombreux travaux dont on peut dégager le schéma suivant :

Action des narcotiques sur la pénétration des substances hydrosolubles.

1^{re} phase : diminution réversible de perméabilité (correspond à l'adsorption du narcotique sur les couches limitantes cellulaires).

2^e phase : augmentation réversible de perméabilité correspond à une dissolution des lipides des couches limitantes cellulaires).

3^e phase : augmentation irréversible de perméabilité.

De toutes ces phases, c'est la deuxième qui a donné lieu au plus grand nombre de critiques : l'existence d'un *stade réversible de perméabilité augmentée* a été souvent contestée, malgré les travaux de HARVEY (129), MEDES et MC CLENDON (191), HOFER et WEBER (135), LEPESCHKIN (152, 155), LIANE DE FÉLICE (95), LLOYD (7, p. 405), GOMPEL (7, p. 405-406), PUPILLIG (7, p. 408).

Nous nous sommes proposé d'apporter une contribution à cette importante question, en étudiant l'action du benzène.

L'expérimentation a été conduite en 2 temps :

1^o Détermination d'une dose active et non toxique de benzène au moyen d'un test cytologique réversible.

2^o Etude proprement dite des modifications de la perméabilité cellulaire.

1^o Détermination d'une dose de benzène active et non toxique.

GUILLIERMOND et GAUTHERET ont donné une définition extrêmement précise de la cellule vivante (14, p. 22 et p. 86) : « le rouge neutre, disent-ils, donne une coloration essentiellement vitale de la vacuole, qui ne peut être réalisée que dans la cellule vivante, car dès que celle-ci meurt la vacuole se décolore et le colorant vient se fixer sur le cytoplasme et le noyau ; de la sorte, le fait qu'une cellule a sa vacuole colorée par le rouge neutre est la meilleure preuve qu'elle est vivante » (loc. cit.).

Rappelons incidemment que la coloration des vacuoles par le rouge neutre s'effectue en plusieurs stades (schéma de VON MÖLLENDORF) : formation de précipités, confluence des précipités, dissolution des précipités (14, p. 214).

De son côté LEPESCHKIN, au cours de ses recherches sur la narcose par l'éther et le chloroforme (152, 155), utilisa un test fort

commode (et irréfutable) de la vie cellulaire, celui des mouvements de cyclose dans la cellule d'*Elodea canadensis* Rich.

Avec ces données, il nous a été facile d'atteindre le but que nous nous étions fixé.

EXPÉRIENCES

Des boutures d'Elodée du Canada, d'une longueur de 5 centimètres, sont mises en culture dans des cristallisoirs de 4 litres contenant une solution de rouge neutre titrant 2 à 5 milligrammes pour cent (4 à 6 boutures par cristallisoir). Le lendemain toutes les vacuoles du pôle distal des feuilles sont colorées, mais d'une manière inégale; pour éviter les erreurs d'interprétation, il est nécessaire de bien connaître l'aspect normal de la coloration vitale dans la feuille d'Elodée: empruntant le système vasculaire de la tige, le colorant pénètre dans la nervure médiane de la feuille et diffuse dans les cellules avoisinantes; ces dernières se saturent littéralement de rouge neutre et présentent, dès la 24^e heure, le stade ultime de la coloration, alors que les cellules marginales de la feuille se maintiennent fort longtemps au stade intermédiaire de précipitation intravacuolaire (stade 2 de VON MÖLLENDORF).

Les boutures sont divisées en plusieurs lots et introduites dans des solutions benzinées de titres variables, où elles séjournent une heure. Au sortir du réactif elles sont lavées à l'eau de source et replacées dans la dilution de rouge neutre. Des examens microscopiques ont été effectués au sortir immédiat du réactif, et après retours de 24 et 48 heures: pour juger de la persistance ou de l'interruption des mouvements cytoplasmiques, il est bon d'éclairer fortement la préparation pendant 10 à 15 minutes (car la cyclose paraît favorisée par les radiations calorifiques et lumineuses).

D'autres expériences ont été conduites un peu différemment: le traitement benziné a précédé la coloration vitale par le rouge neutre; les pièces sont, au sortir de l'eau benzinée, replacées pendant 24 heures dans l'eau pure, puis introduites dans la solution colorante pour une durée de 24 heures.

Enfin certaines pièces benzinées ont été examinées sans coloration vitale primitive ou consécutive.

Toutes ces expériences ont été effectuées à la température ambiante de 26-28° (Juillet-Août 1943).

RÉSULTATS

a) *Action de l'eau benzinée dédoublée (1 heure).*

Partout on constate l'arrêt de la cyclose; le lendemain, de nombreux noyaux et chloroplastes sont colorables par le rouge neutre (critérium de mort cellulaire, 14, p. 86). Dans les conditions où nous avons opéré, l'eau benzinée dédoublée a une action toxique irréversible.

b) *Action de l'eau benzinée diluée au quart (1 heure).*

Au sortir immédiat du réactif, les courants cytoplasmiques sont généralement ralentis, mais toutes les cellules sont vivantes; après « retours » de 24 heures et 48 heures, les cellules se comportent de manière normale. De multiples expériences, effectuées à la température de 26-28° avec l'eau benzinée diluée au quart, nous ont permis de nous assurer de son action réversible; nous sommes là en possession d'une dose sûre (d'ailleurs assez voisine de la dose toxique limite) nous permettant d'aborder la deuxième partie de nos recherches.

2° **Action de l'eau benzinée diluée au quart sur la perméabilité de la feuille d'*Elodea canadensis* Rich.**

CHOIX DE LA MÉTHODE

La mesure de la perméabilité cellulaire s'effectue généralement par des procédés plasmométriques; nous ne nous étendrons pas sur leurs modalités d'application, qui sont classiques (7); bornons-nous à souligner que ces méthodes sont tout à fait impropres à l'objet de nos recherches: les solvants des lipides (en particulier l'éther, le chloroforme, le benzène) mettent la cellule en état d'imminence plasmolytique [faibles doses: recherches de Fr. WEBER (267, 266) et de DERRY (75)] ou de plasmolyse proprement dite [fortes doses: recherches de PICARD (24) et de MEITÈS (voir ici même pages 22, 55, 74)]; tout le dispositif de la détermination plasmométrique se trouve alors compromis. Nous avons donc renoncé à utiliser les techniques plasmométriques qui, d'ailleurs, ont été sévèrement critiquées par OSTERHOUT et par HOMÈS (137).

Nous nous sommes inspiré des recherches de N. HARVEY (129) basées sur la pénétration de la soude, en présence ou en l'absence

de chloroforme, dans des cellules préalablement colorées par le rouge neutre (le colorant sert d'indicateur). Ce procédé n'est d'ailleurs pas exempt de toute critique; la pénétration de la soude ne s'effectue qu'après lésion de la surface cellulaire : « The inorganic hydroxydes (NaOH, KOH,...) only enter the cell after they have affected the normal impermeability — in other words after they have rendered its surface permeable to themselves... » (129, p. 534). On ne saurait affirmer que le passage plus ou moins rapide de l'alcali reflète à coup sûr la perméabilité plus ou moins grande de la membrane plasmique : plus exactement, il reflète son *degré de résistance*. Quoi qu'il en soit de nombreux auteurs, dont GELLHORN (7), ont accepté ce test pour l'étude de la perméabilité.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES EFFECTUÉES AVEC L'EAU BENZINÉE DILUÉE AU QUART (1)

Rappelons que la dose de benzène utilisée est active mais non toxique.

Des boutures d'*Elodea canadensis* Rich. sont prélevées le jour de l'expérience et sélectionnées avec soin : on ne retiendra que les plus ressemblantes; toutes sont ramenées à la longueur de cinq centimètres mesurée à partir du bourgeon terminal. Les boutures sont introduites dans un cristallisoir de 4 litres contenant une solution de rouge neutre à 1/50.000; après une vingtaine d'heures les pièces, qui ont une belle teinte rouge, sont divisées en deux lots :

Le premier lot est introduit, pour une durée de 1 heure, dans l'eau benzinée saturée diluée au quart (3 à 6 boutures par cristallisoir : le benzène étant adsorbé sur les feuilles d'*Elodea* dont l'ensemble représente une énorme surface, l'adsorption est régie par la loi de Freundlich; il faut tenir compte, en même temps que de la concentration de benzène, de la quantité d'*adsorbant* mise en jeu); le deuxième lot, servant de témoin, séjourne parallèlement dans l'eau pure. Au sortir du réactif les boutures sont lavées à trois reprises avec de l'eau de source, puis replacées dans la solution de rouge neutre.

(1) Nous avons apporté quelques modifications de détail à la technique originale de N. HARVEY (129).

On procède à la détermination de perméabilité (soit au sortir immédiat du réactif benziné, soit le lendemain) de la manière suivante :

Les pièces benzinées sont introduites dans un vase de Bohême contenant 150 cm³ d'une solution de NaOH à 1 pour 1000; on opère de même avec les témoins. L'examen doit porter sur les feuilles adultes (situées à plus de 1 cm du bourgeon terminal) où le virage est beaucoup plus régulier que dans les feuilles du bourgeon; le début du virage est facile à observer macroscopiquement, l'ensemble de la bouture prenant une coloration orangée; on continue l'observation au microscope en détachant quelques feuilles à intervalles réguliers : les feuilles prélevées dans chaque lot (lot témoin et lot benziné) devront appartenir à un groupe de deux ou trois verticilles homologues situés à une distance déterminée du bourgeon. Le terme du virage (qu'on observera dans le pôle distal des feuilles) est caractérisé par l'apparition, dans les vacuoles, de belles aigrettes jaunes.

RÉSULTATS

a) Déterminations effectuées au sortir immédiat du réactif benziné.

Les durées ci-dessous indiquées représentent le temps nécessaire pour obtenir le *virage total* de la coloration dans le pôle distal :

	<i>Virage en</i>
Expérience n° 1.....	15 minutes
Témoins	25 minutes
Expérience n° 2.....	15 minutes
Témoins	35 minutes
Expérience n° 3.....	14 à 18 minutes
Témoins	20 à 23 minutes

En résumé l'eau benzinée diluée au quart a sensiblement facilité la pénétration de la soude.

b) Déterminations effectuées après « retour » dans la solution de rouge neutre à 1/50.000 :

Dans l'expérience suivante la membrane plasmique a retrouvé sa résistance normale :

Virage en

Expérience n° 1 (retour de 24 heures)	22 à 25 minutes
Témoins	22 à 25 minutes

La remontée dépasse même, dans certains cas, la valeur normale :

Virage en

Expérience n° 2 (retour de 24 heures)	28 minutes
Témoins	21 à 25 minutes

Il y a là une intéressante analogie avec les résultats obtenus par LIANE DE FÉLICE (95) en 1933, au moyen d'une technique très différente de la nôtre (mesures de conductivité par la méthode d'OSTERHOUT): cet auteur montra que l'eau chloroformée au 1/5 de saturation (dose non toxique) provoque une diminution de résistance électrique (augmentation de perméabilité) rapidement suivie d'une remontée qui peut dépasser de beaucoup la résistance électrique initiale (diminution tardive de perméabilité).

En résumé, dans les conditions où nous avons opéré, l'action de l'eau benzinée diluée au quart rappelle celle de l'eau chloroformée diluée au 1/6 (N. HARVEY, 129) ou au 1/5 (LIANE DE FÉLICE, 95) : *elle diminue transitoirement la résistance de la membrane plasmique*; en homologuant ce critère avec celui de la perméabilité, nous apportons une réponse au problème posé (page 77) : employé à une dose non toxique, le benzène peut augmenter la perméabilité de manière réversible.

§ III. — RECHERCHES EFFECTUÉES SUR LE CHONDRIOME DES ÉCAILLES BULBAIRES D'*ALLIUM CEPA* L.

1° Objet de ces recherches.

Les observations vitales que nous avons effectuées sur le chondriome d'*Allium Cepa* L. ont eu un double objet : d'une part contrôler les résultats obtenus après fixation, d'autre part étudier les tout premiers stades de l'action du benzène sur le chondriome.

Le benzène fait partie d'un important groupe de substances qui provoquent la granulation des chondriocentes; mais les modalités de cette granulation ont donné lieu à des descriptions assez discor-

dantes : NADSON et MEISL (213), BEAUVÉRIE et CORNET (39), MILOVIDOV (205), étudiant vitalement les modifications cytologiques produites par le chloroforme, l'éther, le benzène, observent une vésiculation puis une granulisation des chondriocentes. De leur côté PICARD (24), ROLLEN (25), MEITÈS (195, 196, 197) étudiant l'action de divers narcotiques observent une granulisation directe non précédée de vésiculation.

Il existe donc deux tendances qu'expliqueraient des raisons de technique (24, p. 49). Il nous a paru intéressant de reprendre ce problème.

2° Conditions techniques préliminaires.

Les écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L. sont très favorables à l'étude vitale du chondriome (GUILLIERMOND).

Le bulbe d'oignon est sectionné verticalement; on extrait, de l'une des tranches, le mamelon central constitué par les feuilles les plus jeunes; à la surface de la cavité ainsi ménagée, on détache un lambeau d'épiderme qu'on porte rapidement sur une lame recouverte de liquide de Ringer. On recouvre d'une lamelle très mince et on perfuse avec du liquide de Ringer. On procède alors à l'observation microscopique (à l'immersion) en évitant toute pression de la lentille frontale. En diaphragmant convenablement on ne tarde pas à distinguer les chondriosomes qui se déplacent activement dans les trabécules du cytoplasme.

La coloration vitale par perfusion facilite beaucoup l'observation: faute de vert janus de préparation récente, nous avons utilisé le violet de méthyle 5 B préconisé par GUILLIERMOND et GAUTHERET (14, p. 41 et p. 181); employé à la dose de 0 mgr. 5 p. cent dans le liquide de Ringer (soit 1/200.000), ce colorant est très électif et se fixe exclusivement sur les chondriosomes et les leucoplastes, sans aucun dommage pour ces derniers; après 20 minutes de perfusion le chondriome est nettement coloré et se prête facilement à l'observation. Dans les conditions que nous venons de décrire, le chondriome conserve son aspect normal pendant plusieurs heures.

Ces préliminaires étant achevés et la coloration vitale obtenue, on procède à l'expérience proprement dite, c'est-à-dire à la perfusion benzinée.

3° Perfusion benzinée des pièces colorées vitalement. — Résultats.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES : PERFUSION PAR L'EAU DE CONDUITE SATURÉE DE BENZÈNE (température ambiante : 24°—26°).

Nous avons suivi la technique de perfusion de Mlle BAZIN (2). Il importe de parer à l'évaporation rapide du benzène en renouvelant fréquemment, en cours d'expérience, les soutirages d'eau benzinée (page 20).

Résultats. — On constate la cessation presque immédiate de tout mouvement protoplasmique; les chondriosomes se gonflent et perdent toute réfringence; après 10 minutes de perfusion benzinée, le stade initial de gonflement (imputable à l'hypotonie du milieu) est suivi d'une régression du gonflement; le chondriome retrouve peu à peu sa réfringence et apparaît alors granulisé: il est extrêmement fin, littéralement « décapé »; en résumé nous avons observé un gonflement initial très fugace suivi d'une granulisation des chondriocontes.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES : PERFUSION PAR LA SOLUTION DE RINGER SATURÉE DE BENZÈNE (température ambiante: 25°—26°).

Après 15 minutes de perfusion les mouvements protoplasmiques sont ralentis; mais ils ne sont abolis que vers la 50^e minute: nous avons remarqué, en particulier, que les longs chondriocontes conservent longtemps leur mobilité.

Le chondriome ne se vésiculise pas à l'exception de quelques rares grains mitochondriaux qui se gonflent dès le début et témoignent ainsi d'une structure particulière; ce fait est à rapprocher d'une récente observation de P. DANGEARD (68) qui, soumettant les poils aériens de Courge à l'action de l'eau acétique, montra que « les éléments du chondriome sont diversement résistants ».

Au cours d'observations très attentives, nous avons pu suivre la *granulisation directe, sans vésiculation préalable, de nombreux chondriocontes*: les grains restent généralement reliés par un fin stroma réfringent; le stade des grains exclusifs n'est atteint qu'après 40 minutes de perfusion. De leur côté les grains mitochondriaux ont une curieuse tendance associative qui se manifeste à partir de la 30^e minute;

ils s'assemblent, soit en files de 2 ou 3, simulant ainsi des chondriomites (ce qui introduit une cause d'erreur dans le diagnostic de ces éléments), soit en amas de 3, 4, ou 5 : il s'agit alors d'une véritable agglutination.

Au stade de granulisation intégrale les éléments du chondriome apparaissent très fins, comme s'ils avaient été « décapés » par le benzène.

Nous avons résumé ces observations dans le tableau suivant :

<i>Perfusion par le liquide de Ringer saturé de benzène (température ambiante 25°—26°)</i>	
	<i>Délai d'apparition du phénomène signalé</i>
Formation de vésicules à partir de <i>certain</i> s grains mitochondriaux	5 ^e minute
Granulisation directe des chondriocentes	
début	9 ^e minute
granulisation totale	40 ^e minute
Rassemblement des grains mitochondriaux	
en file (faux chondriomites)	35 ^e minute
en amas	50 ^e minute
Arrêt définitif des mouvements protoplasmiques	50 ^e minute

SYNTHÈSE DES RÉSULTATS PRÉCÉDENTS

L'étude vitale du chondriome d'*Allium Cepa* L. nous permet de formuler les conclusions suivantes :

En milieu *isotonique*, le benzène provoque la granulisation directe des chondriocentes, et ne vésiculise que quelques rares mitochondries ; les grains mitochondriaux ont tendance à s'associer en files et en amas.

En milieu *hypotonique*, toutes ces altérations sont précédées d'une vésiculation fugace (imputable à l'eau) : l'action granulisante du benzène est d'ailleurs accélérée et favorisée par la vésiculation « hypotonique » préalable, car cette dernière fragilise le chondriome ; en d'autres termes, l'hypotonie renforce la toxicité propre du benzène.

Le rôle de la pression osmotique semble avoir été souvent négligé au cours des recherches antérieures sur l'action des narcotiques, et l'on comprend que des différences d'ordre expérimental soient le point de départ des interprétations divergentes de certains auteurs.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES MORPHOLOGIQUES

Au cours des précédents chapitres, nous avons étudié la structure fine de la cellule végétale placée dans des conditions de milieu bien définies (milieu aqueux, milieu benziné); or le devenir de la cellule retentit sur le développement de l'organe et la morphogenèse de la plantule entière : cette corrélation évidente nous a paru justifier une étude spéciale sur les diverses transformations morphologiques immédiates ou tardives qui, chez *Lupinus albus* L., accompagnent les modifications cytologiques du méristème radiculaire.

OBSERVATIONS PRÉLIMINAIRES

a) *Développement normal de l'appareil radiculaire de Lupinus albus* L.; les corrélations pivot-radicelles ⁽¹⁾.

Les plantules se sont développées dans les conditions suivantes :

Les graines de Lupin sont humectées pendant 24 heures, puis mises à germer sur sciure de bois humide. Après 3 jours de germination nous prélevons les jeunes pousses dont la racicule mesure 20 millimètres (à 1 millimètre près) ⁽²⁾; à ce moment les cotylédons ne sont pas ouverts, et il n'y a pas encore de radicules. 12 plantules ainsi choisies sont transportées dans une dilution au demi de la solution nutritive de Shive (*page* 6), l'hypocotyle et la racicule baignant seuls dans le liquide qui doit être fréquemment renouvelé.

⁽¹⁾ BERTHON (43) a récemment étudié le développement des radicules chez les Angiospermes; en raison des circonstances actuelles, il ne nous a pas été possible de consulter ce travail dont nous avons connaissance par une courte référence parue dans l'« Année Biologique » (1943, 19, p. 249).

⁽²⁾ Pour la mesure de la racicule, nous avons choisi un repère fixe suffisamment visible sur toutes les pousses : la dépression située au niveau du collet répond à cette condition.

On évalue quotidiennement la longueur moyenne de la racine et d'autre part le nombre moyen de racines par plantule.

On peut ainsi construire deux courbes :

1^o la courbe de croissance de la racine;

2^o la courbe d'apparition des racines.

La croissance de la racine est d'abord très rapide, puis se ralentit; le plateau est atteint entre le 5^e et le 8^e jour, enfin la racine perd sa turgescence et dégénère : il est intéressant de constater que cette dégénérescence est un stade normal de l'évolution de l'appareil racinaire, exclusif de tout traumatisme d'origine externe.

Les racines apparaissent entre le 4^e et le 7^e jour; elles sont disposées suivant deux plans diamétralement opposés de la racine (tout à fait exceptionnellement on peut observer l'ébauche d'un troisième plan de racines).

Examinons de plus près les circonstances de l'apparition des racines : dans une de nos expériences, la croissance du pivot a atteint son plateau le 8^e jour (courbe en traits interrompus de la figure 13, page 96); les premières racines apparaissent le 7^e jour (courbe des racines, en traits interrompus, de la figure 15, page 98), soit seulement 24 heures avant l'arrêt de croissance du pivot.

On retrouve la même relation dans une autre expérience : arrêt de croissance du pivot le 5^e jour (courbe en traits interrompus de la figure 14, page 96), apparition des premières racines le 4^e jour (courbe des racines, en traits interrompus, de la figure 16, page 99).

En somme, la sortie des racines précède de peu et semble liée à la régression de vitalité du pivot. Rien d'étonnant à cette vicariance, divers auteurs ayant signalé l'existence d'un balancement entre l'activité du sommet végétatif et l'état de développement des racines. ZIMMERMANN et HITCHCOCK (276) ont montré, sur une racine aérienne de Vigne, que l'inhibition du pivot par une hétéro-auxine provoque la formation de racines, et que la reprise de croissance du pivot inhibe à nouveau ces dernières. Des expériences analogues ont été effectuées récemment par CASTAN (51) sur les racines d'*Allium Cepa* L. De son côté Mlle FOURCROY a montré « l'accélération évolutive des racines dans les racines traumatisées » (97, 98); « on sait, dit cet auteur, que toute lésion de la racine a pour effet d'accroître le nombre de racines et de hâter leur apparition ».

La décapitation du sommet végétatif a des effets de stimulation analogues, selon JOST (141), et DANGEARD (70).

Nous avons décapité une racine de Lupin, longue de 70 millimètres, que nous avons photographiée quelques jours plus tard (planche XVII, fig. b); la stimulation des radicules est impressionnante: ces dernières sont sorties en si grand nombre (comparer avec le témoin: planche XVII, fig. a) qu'elles ont fait éclater l'écorce de la racine.

Nous terminerons cette description par la remarque suivante qui incite le chercheur à quelque modestie: le hasard d'une lecture nous permit d'apprendre que, il y a près de cinq siècles, Léonard de Vinci avait signalé des phénomènes de vicariance chez la Courge !⁽¹⁾

b) *Actions comparées du milieu aérien et du milieu aqueux sur la croissance de la racine de Lupinus albus L.*

Nous avons effectué l'expérience suivante: des graines de Lupin blanc sont mises à germer sur coton humide jusqu'à ce que les radicules atteignent une longueur moyenne de 25 millimètres, puis sont divisées en deux lots: le lot témoin continuera à germer sur coton humide; l'autre lot est porté dans des tubes à essais contenant une dilution au demi d'eau de rivière de Montpellier et d'eau distillée (page 6).

Après 10 minutes de séjour dans ce milieu très hypotonique (page 17) les extrémités radiculaires montrent une nette turgescence; ce phénomène particulièrement marqué dans la zone subterminale régresse en quelques heures, et l'allongement des racines se poursuit dans les meilleures conditions comme l'indiquent les courbes comparatives de la figure 11 (page 90).

On voit que, dans cette expérience, le milieu aqueux a été nettement favorable à la croissance radiculaire; mais nos recherches sont trop fragmentaires pour que nous puissions prétendre à une conclusion définitive: il est bon de rappeler que l'eau distillée *employée pure* est impropre à la croissance du Lupin (JORIOT, 16, p. 51).

L'action de l'eau sur la prolifération des cellules végétales a été très discutée; la plupart des auteurs attribuent à l'eau une action

⁽¹⁾ Merejkowski (D). Le roman de Léonard de Vinci, Nelson, édit., Paris (dans le chapitre consacré au Journal de Giovanni Beltraffio).

inhibitrice (104), alors que PRÉVOT et WHITE sont de l'avis contraire. Nous croyons pour notre part qu'un facteur important, inhérent à la minéralisation du milieu aqueux, reste à caractériser.

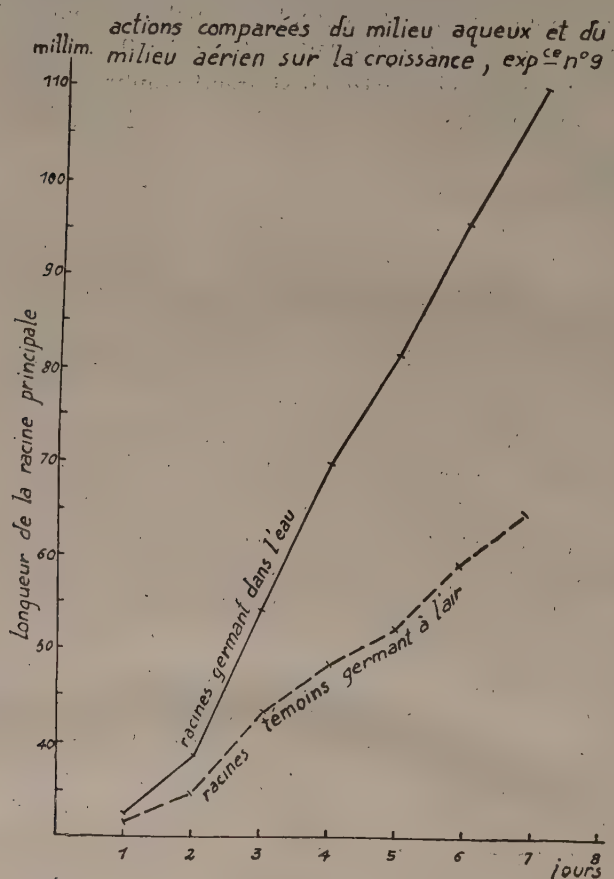


FIGURE II

ACTION DU BENZÈNE SUR LA MORPHOLOGIE ET LE DÉVELOPPEMENT DE LUPINUS ALBUS L.

Nous avons déjà exposé (page 20) les raisons qui nous ont fait préférer les solutions aqueuses de benzène aux vapeurs; nous n'y reviendrons pas.

Voici le mode opératoire que nous avons suivi (192, 193) :

Témoins.

12 jeunes plantules, dont la radicule mesure en moyenne 20 millimètres, sont immergées entièrement dans l'eau de source pendant un temps variable (1 à 2 heures). Puis les plantules sont replacées sur sciure de bois humide; dans d'autres expériences, le retour a été effectué dans des tubes renfermant une dilution au demi de la solution nutritive de Shive (*page 6*): le milieu de Shive donne des résultats très réguliers et facilement comparables; par contre sur sciure, les plantules ne tardent pas à se recourber et les conditions d'humidité deviennent très variables.

Le développement normal de l'appareil radiculaire a été décrit plus haut (*page 87*). La croissance de l'axe hypocotylé évolue parallèlement à celle de la radicule. Quant à l'axe épicotylé, il n'apparaît sur milieu de Shive que vers le 6^e jour et développe ses feuilles jusque vers le 30^e jour. Puis la plante commence à se flétrir.

Expériences.

Nous immergeons (pendant 1 à 2 heures) 12 plantules choisies dans les mêmes conditions que les témoins, soit dans l'eau de source saturée de benzène (très toxique), soit dans l'eau benzinée saturée diluée au 1/2 ou au 1/4.

Au sortir du liquide les plantules sont lavées à l'eau de source et placées, comme les témoins, sur sciure humide ou sur milieu de Shive.

Nous avons également effectué quelques expériences de longue durée, en cultivant le Lupin sur milieu de Shive faiblement benziné ($1/4$ et $1/8$ de saturation).

Nous rendons compte ci-dessous des résultats obtenus; nous les avons illustrés par une série de planches (planches XVIII à XXIV) dont nous expliquons, une fois pour toutes, la légende :

T. : témoins.

B. sat. : pièces ayant séjourné dans l'eau benzinée saturée.

B/2 : » » » » » » dédoublée.

B/4: " " " " " diluée au 1/4.

B/8: " " " " " " diluée au 1/8.

§ I. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE

(durées : 1 heure à 1 h. 30)

La racicule est, au sortir du liquide, très ramollie, flaccide; l'arrêt de croissance est total et définitif.

Après retour sur sciure ou sur milieu de Shive, la zone sous-méristématique située à quelques millimètres de l'apex est devenue jaune, filiforme; puis la nécrose envahit toute la racicule, y compris le méristème (planche XVIII, fig. b).

La destinée de la plantule est alors variable : dans certains cas la nécrose gagne l'hypocotyle et la plantule meurt rapidement; mais dans d'autres cas l'hypocotyle résiste : des radicelles apparaissent, et la plantule est sauvée. Ces radicelles, dont la formation est très retardée par rapport aux témoins, apparaissent au niveau du collet, à la limite de la région nécrosée et de la région saine (planche XIX, fig. b : 16^e jour de retour sur milieu de Shive dilué au demi); elles sont très peu nombreuses, disposées sur 4 plans, extrêmement vigoureuses, parfois même monstrueuses. Plus tard, dans la même région, apparaissent d'autres radicelles dont la répartition est anarchique (planche XX, fig. b : 28^e jour de retour sur milieu de Shive dilué au demi).

Le développement des axes hypo- et épicotylé est considérablement retardé (planche XXII, fig. b : aspect d'ensemble après un mois de culture); ces axes restent, en général, plus courts que ceux des témoins.

Le développement foliaire est nettement entravé et donne lieu à une anomalie curieuse : la feuille composée du Lupin est généralement formée de 5 ou 7 folioles, et très rarement de 4 ou 6 folioles; or ce dernier cas est deux ou trois fois plus fréquent dans les plantules benzinées : il est d'ailleurs vraisemblable que la forme paire correspond à l'avortement d'une foliole dans les feuilles du type impair normal. Nous avons là un exemple des répercussions tardives que peut exercer une action toxique sur l'organogenèse : cette malformation peut être rapprochée des diverses anomalies foliaires post-traumatiques signalées par ULRICH dans une récente revue d'ensemble (259).

§ II. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE DÉDOUBLÉE (durées : 1 heure à 1 h. 30)

Nous savons déjà (*page 26*) que l'action de l'eau benzinée dédoublée s'exerce à la limite de la toxicité : au sortir immédiat du réactif, les plantules sont apparemment en bon état; replacées sur sciure humide ou sur milieu liquide, elles ont un sort extrêmement variable.

A. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE DÉDOUBLÉE SUIVIE D'UN RETOUR SUR MILIEU AÉRIEN HUMIDE

Ces recherches ont été conduites dans des conditions rigoureusement identiques à celles de nos expériences cytologiques.

ALLONGEMENT DE LA RADICULE, DÉVELOPPEMENT DES RADICELLES

La racine subit un ralentissement ou un arrêt de croissance; l'apparition des radicelles est stimulée : ces processus sont tout à fait analogues à ceux qui seront décrits plus loin, dans les plantules cultivées sur milieu liquide.

MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DE LA RADICULE

a) *Retours de 24 et 48 heures.*

Certaines racines ont conservé leur aspect normal; d'autres présentent divers types d'altérations que nous avons rassemblés dans la figure 12 (*page 94*).

Le méristème de la racine *b* est surmonté d'une intumescence, puis d'un étranglement; l'étude cytologique de l'intumescence ne révèle aucune structure particulière; d'ailleurs l'hypertrophie disparaît après déshydratation par la série des alcools. Rappelons que de très nombreuses substances tuméfient la zone subterminale des racines : citons la colchicine à certaines dilutions (107, 79, 178, 181), le chloral (216), les alcaloïdes puriques (125), divers apiols (108), les arsenicaux (180); on admet aujourd'hui que ces substances troublent le transport normal des auxines dans les cellules de la zone

subterminale : l'extensibilité des parois cellulosesiques s'en trouve accrue et, corrélativement, la turgescence cellulaire (Miss BRAIN, 48).

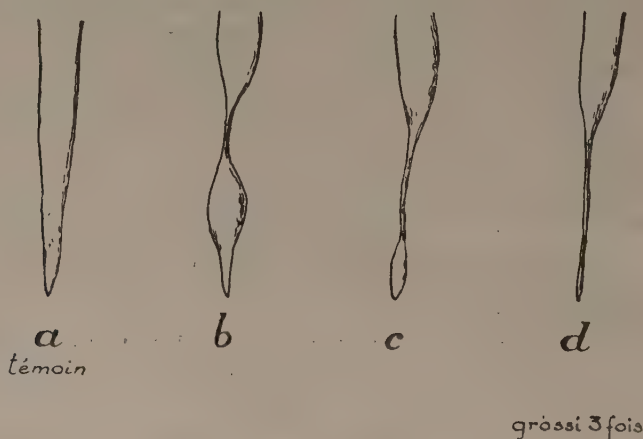


FIGURE 12

Diverses étapes d'altération de la racine par l'eau benzinée dédoublée.

Poursuivons l'examen de la figure 12 : la racine *c*, dont nous avons fait par ailleurs (page 33) une étude cytologique, a un méristème d'apparence normale surmonté d'un étranglement; enfin dans la racine *d*, les altérations ont gagné le méristème, et toute l'extrémité radiculaire est nécrotique.

b) Retours prolongés.

L'hypertrophie subterminale, constatée les premiers jours dans certaines racines, régresse; par contre l'amincissement est irréversible.

En définitive, les extrémités radiculaires peuvent présenter divers aspects : certaines paraissent intactes, d'autres sont nécrotiques (planche XXIII, cas n° 1); d'autres enfin sont dans un état intermédiaire : le méristème apparemment vivant est séparé du reste de la plantule par une zone nécrotique filiforme; ce dernier type mérite un examen détaillé : les photographies de la planche XXIII (cas n° 2, figures *a* et *b*; la zone nécrotique a été indiquée par une flèche) ont été prises après un « retour » sur sciure de 9 jours; le méristème de la

figure *a*, qui n'a pas proliféré, est épaissi par l'hypertrophie de ses cellules dont la surface de section peut atteindre, dans le périblème, 2500 μ carrés, alors qu'elle ne dépasse pas 1500 μ carrés dans le périblème des témoins. Cette tuméfaction du méristème est analogue à celle qui a été décrite par MANGENOT, dans le Lupin, après action de la colchicine (178, 179) : elle est due au fait, dit cet auteur, « que le méristème ne fonctionnant plus, ce sont toujours les mêmes cellules qui reçoivent le matériel nourricier », d'où « l'accroissement isodiamétrique de ces cellules » non renouvelées par la prolifération du méristème.

La zone nécrotique qui surmonte le méristème a déjà fait l'objet d'une étude histologique (page 34); rappelons qu'elle est parcourue par un faisceau vasculaire parfaitement différencié formant un pont entre le sommet végétatif et le reste de la plantule : l'isolement du méristème n'est donc qu'une apparence.

Le type morphologique que nous venons de décrire a une variante assez curieuse (planche XXIII, cas n° 2, fig. *b*) : le méristème a proliféré, de sorte que l'apex radiculaire s'est progressivement éloigné de la zone d'élongation primitivement envahie par la nécrose.

B. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE DÉDOUBLÉE SUIVIE D'UN RETOUR DANS LA SOLUTION DE SHIVE DILUÉE AU DEMI

La germination sur milieu liquide, très régulière, se prête bien aux déterminations quantitatives.

1° Action sur la morphologie et le développement.

ALLONGEMENT DE LA RADICULE ⁽¹⁾

La croissance est généralement très ralentie (fig. 13, page 96), parfois même définitivement arrêtée (fig. 14) (les courbes des témoins ont été figurées en traits interrompus).

(1) Les déterminations ont été effectuées en prenant la moyenne de 12 racines.

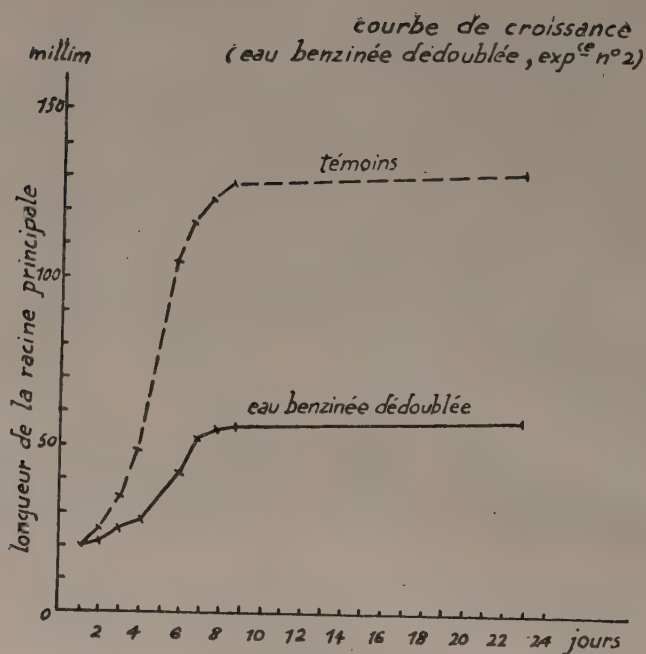


FIGURE 13

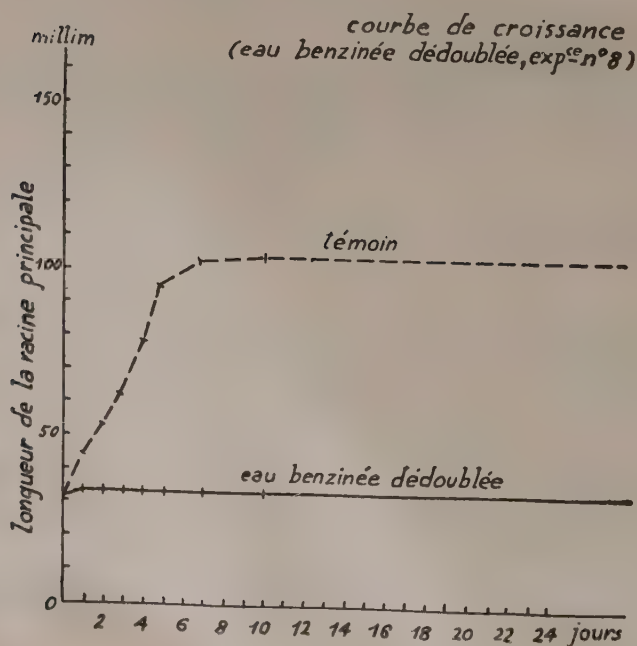


FIGURE 14

La diminution de l'allongement terminal permet de confirmer que l'accumulation des figures de cinèses, constatée dans le méristème (pages 31 et 32), ne résulte pas d'une stimulation mais au contraire d'un ralentissement du rythme mitotique.

MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DE LA RADICULE

L'hypertrophie sous-méristématique, précédemment constatée après « retour » sur la sciure humide, est extrêmement rare en milieu liquide; les autres altérations se succèdent suivant le mode déjà décrit : on observe souvent un amincissement subterminal, le méristème paraissant normal ou légèrement tuméfié; dans les cas plus graves la nécrose subterminale, qui a débuté sur une zone étroite de quelques millimètres, a fini par gagner le méristème.

DÉVELOPPEMENT DES RADICELLES (192, 193)

Les radicelles ne prennent naissance que dans la région apparemment saine de la radicule; leur apparition est très nettement stimulée par rapport aux témoins (tableau 13 et planche XVIII, fig. c, photographie prise après une semaine de culture).

TABLEAU 13

	Nombre de radicelles par plantule ⁽¹⁾	
	Témoins	Pièces benzinées
Expérience n° 1 (7 ^e jour de culture)...	7	20
Expérience n° 2 (6 ^e jour de culture)...	7	51
Expérience n° 3 (5 ^e jour de culture)...	7 à 8	22 à 23

Les radicelles des pièces benzinées sont toujours plus vigoureuses (planche XVIII, fig. c; planche XIX, fig. c). L'apparition de 1 ou 2 plans supplémentaires de radicelles est beaucoup plus fréquente que chez les témoins; ces plans supplémentaires restent le plus souvent, il est vrai, à l'état d'ébauche. En définitive, *nous avons transformé la racine pivotante du Lupin en racine fasciculée* (planche XIX, fig. c).

Les « courbes des radicelles » (page 88), construites en évaluant quotidiennement le nombre moyen de radicelles par plantule, sont intéressantes :

(1) Déterminations effectuées en prenant la moyenne de 12 plantules.

En voici un premier type (la courbe des témoins a été représentée en traits interrompus) :

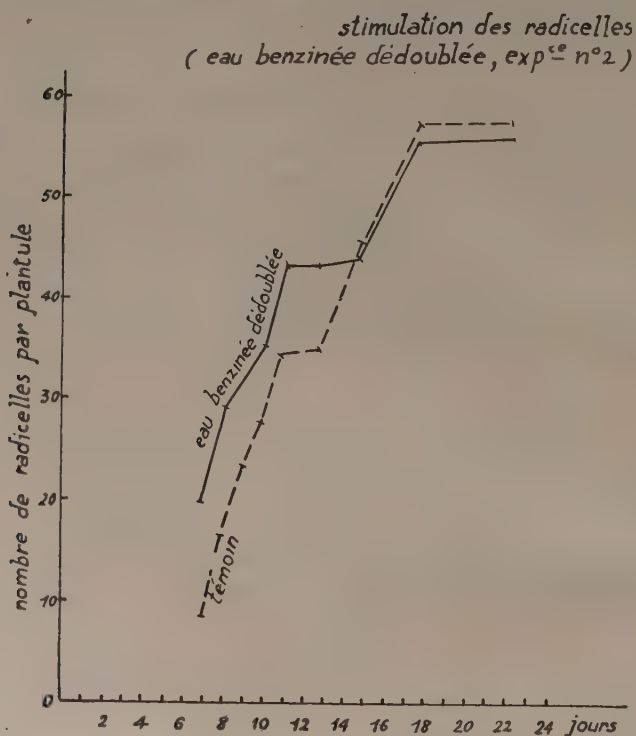


FIGURE 15

Stimulation transitoire des racicelles par l'eau benzinée dédoublee.

La stimulation des racicelles est nette jusqu'au 7^e jour, puis les deux courbes se rejoignent (comparer, dans la planche XX, la racine benzinée *c* et la racine témoin *a*, photographiées après 28 jours de culture) : la stimulation est donc *transitoire* ; pareil fait ne doit pas nous étonner : nous avons en effet montré (*page 88*) que l'apparition des racicelles chez les témoins est elle-même le résultat d'une stimulation liée à la dégénérescence plus ou moins tardive du sommet végétatif ; en somme le traitement benziné *avance* la stimulation par rapport aux témoins, mais le plafond atteint est sensiblement le même.

La courbe des radicelles de la figure 16 est d'un type différent :

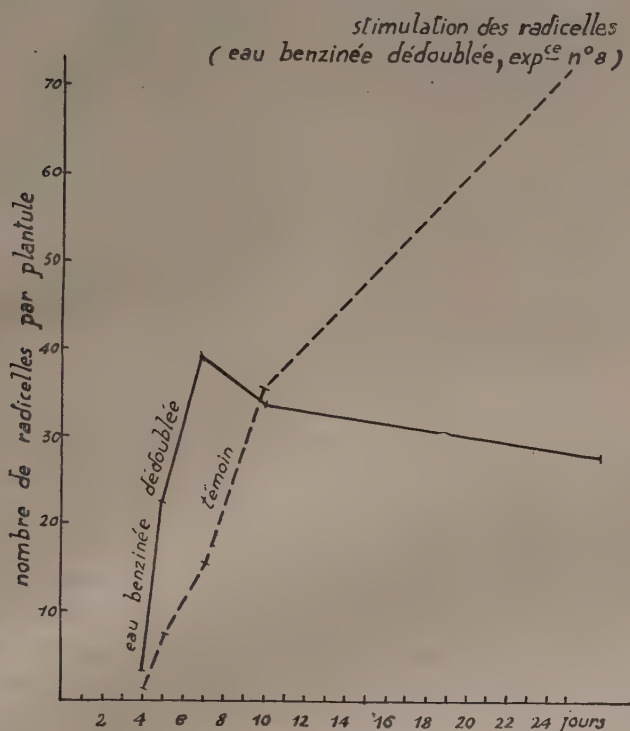


FIGURE 16

Stimulation transitoire des radicelles par l'eau benzinée dédoublée.

La stimulation est nette jusqu'au 7^e jour, puis tout change : alors que le nombre des radicelles ne cesse de croître chez les témoins, il diminue lentement dans les plantules benzinées ! L'explication est fort simple : dans cette expérience, l'eau benzinée dédoublée a complètement arrêté la croissance du pivot (fig. 14, page 96) ; les radicelles étant contraintes de se développer sur une zone très étroite, certaines d'entre elles se sont soudées (193, p. 307). Dans le même ordre de faits, rappelons que FABER (88), MANGENOT et Mlle CARPENTIER (183) ont signalé de curieux cas de coalescence des radicelles sous l'effet de l'acide indol β acétique employé seul ou mélangé avec l'acide para-aminobenzoïque.

DÉVELOPPEMENT DE LA TIGE ET DES FEUILLES

L'eau benzinée dédoublée n'a pas, en général, apporté de modifications dans le développement de l'hypocotyle (examiner les figures *c* des planches XVIII, XIX, XX) et de l'axe épicotylé (figures *c* des planches XXI et XXII).

Le développement foliaire est normal; notons toutefois que l'apparition des feuilles atypiques à nombre pair de folioles (*page* 92) est deux fois plus fréquente que chez les témoins.

2^o Analyse plus détaillée de la stimulation benzénique des radicelles.

ÉNONCÉ DU PROBLÈME

Une idée vient immédiatement à l'esprit pour expliquer l'action stimulante de l'eau benzinée dédoublée : par le jeu des corrélations (*page* 88), l'altération du sommet végétatif entraîne la levée d'inhibition des radicelles.

D'après certains auteurs (CASTAN, 51) le développement des radicelles serait lié à la teneur du pivot en auxine ; le mécanisme de la ramification des racines est en réalité fort mal connu, mais le comportement (apparemment semblable) des jeunes tiges a été beaucoup plus étudié (voir l'importante mise au point de VAN OVERBEEK, 223) : le bourgeon apical en activité produit une quantité d'auxine suffisante pour inhiber, dans les conditions normales, la croissance des bourgeons axillaires; vient-on à sectionner le bourgeon apical, la production d'auxine cesse et l'inhibition des bourgeons dormants est levée.

Pour notre part, nous nous gardons bien de transposer ce résultat à la racine; en effet, s'il est démontré que le méristème radiculaire est producteur d'auxine, cette dernière ne paraît pas transportée dans la zone *adulte* (précisément là où naissent les radicelles) où le courant d'hormone est polarisé de haut en bas en provenance de la tige (et non pas de bas en haut) (248).

Mais un autre fait troublant se dégage fréquemment des travaux précités : la décapitation d'un pivot ou d'une tige n'a pas pour *seul* effet de modifier le transport des auxines; on a souvent tout rapporté à ces dernières et oublié le traumatisme résultant de la décapitation ! Or, les travaux de MORELAND (cité d'après VAN OVERBEEK, 223) et de

Mlle FOURCROY (97, 98) ont établi que toute lésion de la tige ou de la racine favorise le développement vasculaire : les travaux de MORELAND ont grandement impressionné VAN OVERBEEK qui édifia, en 1938, une nouvelle théorie des corrélations dans la tige : ce qui domine le transport de l'auxine, c'est le développement de sa voie d'accès, c'est-à-dire le système vasculaire.

En définitive on peut se demander si les traumatismes « mécaniques ou biologiques » n'aboutissent pas à la production d'hormones *nécrotiques* responsables de la différenciation vasculaire et, corrélativement, de la stimulation des racinelles (192, 193).

Sans préjuger de la nature de ces hormones, on peut facilement montrer que le benzène, utilisé à une dose relativement peu toxique, excite les phénomènes de catabolisme : de jeunes plantules de Lupin blanc, âgées de 5 jours, sont plongées dans l'eau benzinée dédoublée pendant 1 heure 30, lavées au sortir du réactif; puis replacées sur coton humide; après 4 jours de « retour » on prélève, par section effectuée à la hauteur du collet, 30 racines (lot A), et autant de racines témoins (lot B); chaque lot, constitué par l'ensemble pivot-racinelles, est broyé dans un mortier avec du sable lavé; la purée obtenue est mise en suspension dans 20 cm³ d'eau distillée; après un contact de deux à trois heures, on centrifuge à 6.000 tours pendant 5 minutes; le liquide clair surnageant sert à identifier l'indol (terme ultime bien connu de la dégradation du tryptophane) par le réactif d'Ehrlich au paradiméthylaminobenzaldéhyde ⁽¹⁾; la coloration est beaucoup plus intense dans le liquide d'extraction des racines benzinées que dans le liquide des témoins : les tubes témoins n'ont guère montré qu'un mince anneau rose pâle apparaissant vers la 30^e minute à la limite de séparation de l'acide chlorhydrique et de la liqueur, et cet anneau ne diffuse pas; quant au liquide d'extraction des racines benzinées, il a d'abord donné un anneau rose violacé qui, après 1 heure 30, a envahi toute la liqueur sus-jacente. Il est possible, dira-t-on (139), que l'indol a été engendré au cours des manipulations; il est facile de répondre à cette objection : en admettant que tout l'indol des témoins provienne

(1) Ce réactif est d'une extraordinaire sensibilité : à 5 cm³ d'extractum on ajoute quelques cm³ d'une solution à 2 p. cent de p. diméthylaminobenzaldéhyde dans l'alcool à 95°; on mélange soigneusement les deux liqueurs, puis on fait tomber lentement au fond du tube quelques cm³ de ClH concentré; on laisse reposer une demi-heure, et on examine sur fond blanc; la présence d'indol est caractérisée par la formation d'un anneau rose violacé dans la zone de contact des deux liquides,

de dégradations réalisées pendant l'extraction, l'excédent d'indol décelé dans les racines benzinées ne saurait être interprété dans le même sens, et, de toute évidence, existait avant l'extraction. En résumé, la radicule altérée par l'eau benzinée dédoublée produit plus d'indol que la radicule normale : il est donc certain que le benzène déclenche des phénomènes d'hydrolyse et de catabolisme *protidique* (libération, puis dégradation du tryptophane).

MASCRÉ et POUSSET ont, d'autre part, montré les profondes variations du contingent *glucidique* chez divers végétaux, sous l'influence du benzène (188).

RÔLE DES FACTEURS NÉCROTIQUES DANS LA STIMULATION DES RADICELLES

L'expérience suivante, fort simple, nous paraît démonstrative : de jeunes plantules de Lupin blanc sont immergées, pendant 1 heure 30, dans l'eau benzinée dédoublée, soigneusement lavées et divisées en 2 lots; les plantules du premier lot sont mises en culture dans la dilution au demi du milieu nutritif de Shive (*page 6*); dans le deuxième lot, on sectionne tous les méristèmes radiculaires, et les plantules décapitées sont mises en culture comme les précédentes.

On opère dans les mêmes conditions avec les plantules témoins ayant séjourné 1 heure 30 dans l'eau de source.

En définitive, nous avons quatre lots de plantules :

Témoins non décapités.

Témoins décapités.

Pièces benzinées non décapitées.

Pièces benzinées décapitées.

Voici les résultats obtenus :

TABLEAU 14

Nombre moyen de radicelles (par plantule) au 7^e jour de culture :

	Sans décapitation du pivot	Avec décapitation du pivot
Témoins	7 à 8	18 à 19
Pièces benzinées	16	22 à 23

TABLEAU 15

Nombre moyen de racicelles (par plantule) au 9^e jour de culture :

	Sans décapitation du pivot	Avec décapitation du pivot
Témoins	27 à 28*	33**
Pièces benzinées	34 à 35***	39 à 40****

Ces tableaux (considérons par exemple le tableau 15) synthétisent trois faits importants :

1^o l'action stimulatrice de la décapitation (comparer les valeurs * et **);

2^o l'action stimulatrice de l'eau benzinée dédoublée (comparer * et ***);

3^o l'action stimulatrice *additive* de la décapitation et du benzène; comparons en effet ** et ****; si la levée d'inhibition du pivot est le *seul* facteur responsable de la stimulation des racicelles, le nombre des racicelles obtenues après décapitation des témoins (**) doit correspondre à un *maximum*; or, il n'en est rien : le maximum est obtenu avec les plantules qui, avant la décapitation, ont subi l'action du benzène (****); dans ce dernier cas, les processus de stimulation ne peuvent s'expliquer uniquement par la levée d'inhibition du pivot; *il existe un autre facteur de stimulation, indépendant de l'élimination du sommet végétatif*; ce fait intéressant a été entrevu fort incidemment par P. DANGEARD en 1941 (70) : CASTAN ayant signalé que des racines d'*Allium Cepa* L. cultivées dans une solution d'hétéroauxine (acide indol β acétique à 5 milligrammes par litre) (51) subissent un ralentissement de croissance et produisent de nombreuses racicelles, DANGEARD montra que la simple décapitation du méristème apical stimule les racicelles de manière analogue; cet auteur suggéra alors que « la production des racicelles pouvait être due tout simplement à la diminution de l'allongement terminal » et mit en doute (ce en quoi il avait tort !) le pouvoir rhizogène spécifique de l'hétéroauxine; mais cette dernière affirmation paraît avoir dépassé la pensée de l'auteur puisque nous lisons quelques lignes plus loin : « *l'hétéroauxine semble agir plus activement que la simple décapitation des racines* » (loc. cit., 70).

En définitive, nous voyons que les effets du benzène (MEITÈS) ou de l'hétéroauxine (DANGEARD) dépassent sensiblement ceux de la

décapitation; or, les conditions expérimentales expliquent fort simplement cette différence, exemple : la décapitation d'une racine cause une lésion tissulaire *locale*, une solution benzinée exerce son action toxique sur *toute la longueur* de la racine; on conçoit alors que la stimulation traumatique (par décapitation) et la stimulation benzénique des radicelles ne soient pas rigoureusement identiques; il est certain que des *facteurs nécrotiques* interviennent dans la stimulation des radicelles,

§ III. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE DILUÉE AU QUART

1° Action de courte durée (1 à 2 heures).

Examinées au sortir immédiat du réactif, les racines ne présentent aucun signe d'altération; replacées sur leur milieu habituel elles continuent, pour la plupart, à se développer (planche XVIII, fig. *d*). Dans les « retours » effectués sur milieu aérien, on note parfois, vers la 24^e heure, une hypertrophie subterminale transitoire.

Le développement de la radicule et des radicelles a été particulièrement étudié après retour sur milieu de Shive dilué au demi.

Allongement de la radicule.

La croissance est, en général, légèrement ralentie par rapport aux témoins (fig. 17, page 105), mais elle peut aussi n'être pas modifiée.

Développement des radicelles.

L'eau benzinée diluée au quart stimule transitoirement l'apparition des radicelles. Son action est moins marquée que celle de l'eau benzinée dédoublée, et les radicelles sont beaucoup plus frêles (planche XVIII, fig. *d*; comparer avec la fig. *c*).

Nous avons renouvelé l'expérience de la page 102 en remplaçant l'eau benzinée dédoublée par l'eau benzinée diluée au quart; rappelons, sans revenir sur les détails, que cette expérience consiste à disposer de 4 lots de plantules : témoins non décapités, témoins décapités, pièces benzinées non décapitées, pièces benzinées décapitées.

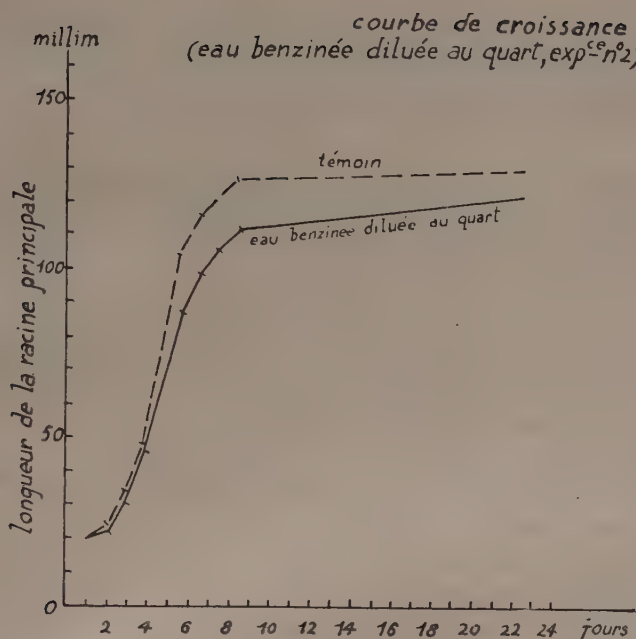


FIGURE 17

Nous avons obtenu les résultats suivants :

TABLEAU 17

Nombre moyen de radicelles (par plantule) au 9^e jour de culture :

	Sans décapitation du pivot	Avec décapitation du pivot
Témoins	27 à 28*	33**
Pièces benzinées	34***	38****

Le maximum de stimulation n'est pas obtenu par la simple décapitation (tableau 17, **), mais par l'action additive du benzène et de la décapitation (****). Le parallélisme absolu de ces résultats et de ceux précédemment obtenus avec l'eau benzinée dédoublée nous dispense de toute redite inutile (voir pages 103 et 104).

Développement de la tige et des feuilles.

Après action de l'eau benzinée diluée au quart (1 à 2 heures) le développement de l'hypocotyle et de l'axe épicotylé se poursuit fort

bien (figures *d* des planches XXI et XXII). Le traitement benziné paraît même favoriser la résistance des plantules, et il n'est pas rare que ces dernières flétrissent plus tard que les témoins.

2° Action de longue durée : culture des racines de Lupin sur milieu benziné au quart de saturation.

Nous avons opéré de la manière suivante : de jeunes plantules ayant germé pendant 3 jours sur sciure humide sont cultivées pendant 5 jours dans la solution nutritive de Shive diluée au demi; puis le milieu de culture est benziné au quart de saturation.

La photographie *b* de la planche XXIV a été prise après *trois jours de séjour* dans le milieu benziné ⁽¹⁾ : la croissance est très ralentie (comparer avec la figure témoin *a*) et la racine toute entière, sauf la pointe méristématique, est tuméfiée.

Des coupes transversales effectuées au rasoir, sur le frais, à 15 millimètres de l'extrémité radicaire, révèlent une hypertrophie cellulaire considérable : alors que, chez les témoins, les cellules du parenchyme cortical ont un diamètre moyen de 65 μ , ce dernier peut excéder 100 μ dans les pièces benzinées.

Nous avons constaté des faits du même ordre avec des concentrations de benzène encore plus faibles : la photographie *c* de la planche XXIV, très caractéristique, a été prise après 3 jours de séjour dans le milieu de Shive dilué au demi et benziné au 1/8 de saturation.

En résumé, le traitement benziné prolongé épaissit toute la partie adulte de la racine; cet effet est comparable à celui que MANGENOT (180), MANGENOT et Mlle CARPENTIER (184) ont obtenu avec le cacodylate de soude, l'arrhéнал, et le para-aminophénylsulfamide.

(1) Le liquide benziné doit être renouvelé quotidiennement.

TROISIÈME PARTIE

RÉSUMÉ DES FAITS DISCUSSION ET INTERPRÉTATION

CHAPITRE PREMIER

EXPOSÉ GÉNÉRAL DES RÉSULTATS

§ I. — RECHERCHES CYTO-PHYSIOLOGIQUES

Les objets étudiés ont été principalement les méristèmes et les régions subterminales, 1^o des racines de *Lupinus albus* L. développées soit à l'air, soit dans l'eau (les conditions de germination devant être précisées en toute circonstance), 2^o des racines d'*Allium sativum* L. développées dans l'eau.

A. — ACTION DE L'EAU SUR LES EXTRÉMITÉS RADICULAIRES DE LUPINUS ALBUS L. AYANT GERMÉ A L'AIR

Action du milieu hypotonique sur la structure fine de la cellule.

Un séjour de faible durée (1 heure à 1 h. 30) dans un milieu hypotonique provoque, dans la cellule méristématique de *Lupinus albus* L., des modifications plus ou moins marquées du chondriome (cavulation) et du vacuome (vacuolisation, précipitations sidérophiles intravacuolaires).

Les altérations du *chondriome* sont transitoires à double titre; elles disparaissent : 1^o quand les plantules ont été replacées sur leur milieu

aérien habituel; 2° quand le séjour dans le milieu hypotonique se prolonge au delà de 48 heures (processus d'adaptation).

Les modifications subies par le *vacuome* ont une réversibilité moins constante.

Pouvoir perméabilisant du milieu aqueux.

Le mode de développement des racines (à l'air ou dans l'eau) est déterminant pour la durée de la fixation effectuée par la méthode de Regaud : la durée optima de postchromisation est, en moyenne, réduite de 30 p. cent si les méristèmes ont proliféré dans l'eau.

L'imbibition aqueuse postformolée a un effet de perméabilisation comparable (page 17).

B. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE SUR LES CELLULES VÉGÉTALES VIVANTES

(Extrémités radiculaires de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L.)

(Durées d'action : 1 heure à 1 h. 30)

Nous avons opéré sur des cellules adaptées (*Allium sativum* L.) et non adaptées (*Lupinus albus* L.) au milieu aqueux : l'ensemble des résultats obtenus permet de caractériser, avec une précision qui nous semble satisfaisante, l'action cyto-toxique du benzène.

1° Modifications du cytoplasme.

L'affinité du cytoplasme pour la laque d'hématoxyline est généralement diminuée.

En opérant sur des cellules adaptées au milieu hypotonique (*Allium sativum* L., page 60), nous avons déterminé la part du benzène (tout à fait indépendante des facteurs osmotiques) dans les modifications du vacuome : la vacuolisation « benzénique », observée après action de l'eau benzinée dédoublée, paraît correspondre à une synérèse.

L'eau benzinée saturée provoque une déshydratation brutale : le cytoplasme perd sa structure vacuolaire, devient granuleux, et subit une plasmolyse dont les effets sont particulièrement marqués dans les cellules axiales du plérome (planche II, fig. b).

2° Modifications du chondriome.

Les modalités de la fixation mitochondriale sont fréquemment modifiées par le benzène: ce dernier réduit notablement (d'un tiers en moyenne) la durée optima de postchromisation du chondriome; en d'autres termes la perméabilité (vis-à-vis du bichromate de potassium) des cellules fixées par le formol est augmentée lorsque celles-ci ont auparavant subi l'action du benzène.

Le benzène utilisé à des doses faibles (eau benzinée dédoublée ou diluée au quart) granulise les chondriocontes; les figures de granulisation, extrêmement fines (planche V, fig. a, et planche XIII, fig. a), représentent un stade *réversible*: nous avons maintes fois observé, après retour des pièces sur leur milieu habituel, des formes de restitution filamenteuses (planche V, fig. c: chapelets moniliformes reliés par un fin tractus sidérophile); pareil comportement suggère (page 27) que le chondrioconte a une structure dont les grains représentent l'élément stable.

Avec l'eau benzinée saturée les altérations sont beaucoup plus profondes: les grains des chondriomites se dispersent, puis s'agglutinent en sphérules qui se rassemblent autour du noyau (planche X, fig. b); le stade sphérulaire est irréversible et reflète avec précision la mort de la cellule.

3° Lipophanérose.

La ségrégation des lipides osmio-réducteurs n'a pu être obtenue qu'avec la dose maxima de benzène (eau benzinée saturée); elle se prête à une intéressante étude topographique. Les observations suivantes ont été effectuées au sortir immédiat du réactif: dans les cellules méristématiques la lipophanérose est discrète (planche III, fig. b; et planche XI, fig. b); mais les cellules *sous-méristématiques*, beaucoup plus fragiles, sont le siège d'une osmio-réduction intense (planche III, fig. c, et planche XI, fig. d) qui apparaît sous forme de taches noires ou brunes agglutinées autour du noyau: ces figures sont homologables aux sphérules mitochondriales observées après fixation par le procédé de Regaud (planche II, fig. b, et planche X, fig. b); il est donc fort probable que certains lipides du chondriome participent aux processus de lipophanérose.

4° Noyaux quiescents.

L'action pycnotique du benzène ne s'exerce qu'aux fortes doses; elle est immédiate avec *l'eau benzinée saturée*, inconstante et tardive avec *l'eau benzinée dédoublée*. Les réactions nucléales de Feulgen, de Turchini, Castel et Kien révèlent que l'acide nucléique des prochromosomes (Lupin) ou du réticulum (Ail) s'est partiellement répandu dans la caryolymphe; ce processus aboutit parfois à la caryorrhexie : nous avons toutefois noté l'extraordinaire résistance des nucléoles qui restent colorables, dans certaines coupes très altérées, par la réaction de Turchini, Castel et Kien.

5° Noyaux en cinèse.

Le benzène a une action mitoclasique (inhibition fusoriale) doublée d'une action toxique générale (ralentissement de la mitose à tous les stades); nous avons pu séparer ces deux actions en fractionnant les doses de benzène.

Comme on devait s'y attendre, le noyau réticulé de l'Ail et le noyau euchromocentrique du Lupin se comportent un peu différemment.

a) LUPIN.

L'eau benzinée diluée au demi ou au quart provoque quelques troubles anaphasiques en retardant la disjonction des chromatides (« méro-stathmocinèses » de GAVAUDAN, page 29); mais ces anomalies sont peu nombreuses. Des statistiques, effectuées après retour des plantules sur leur milieu normal, révèlent fréquemment l'accumulation de toutes les figures de mitoses (pages 32 et 38); ce processus, qui coïncide avec une diminution ou même un arrêt de croissance de la radicule (fig. 13 et fig. 14, page 96), doit être attribuée à un ralentissement général de la division.

L'eau benzinée saturée est très toxique et bloque rapidement les cinèses à tous les stades.

b) AIL.

L'Ail réagit plus intensément que le Lupin à l'action mitoclasique du benzène.

L'eau benzinée diluée au quart (durée d'action : 1 heure) altère légèrement et transitoirement le fuseau anaphasique : on observe

quelques anaphases aberrantes avec ponts chromosomiques; ce type très fruste de « mérostathmocinèses » est essentiellement réversible.

L'eau benzinée dédoublée a une action plus profonde : en une heure elle bloque presque complètement les métaphases et enchevêtre fréquemment les chromatides (stathmocinèses vraies); les rares anaphases subsistantes sont anormales (dissociation du fuseau et apparition de figures pluripolaires, planche XIV, fig. b). La réversibilité de ces altérations est inconstante.

Quant à l'eau benzinée saturée, extrêmement toxique, elle induit des stathmocinèses abortives.

C. — ACTION DE L'EAU BENZINÉE SUR LES CELLULES FORMOLÉES

(extrémités radiculaires de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L.)

Nous avons étudié la stabilité des cénapses lipido-protidiques du chondriome en nous inspirant des recherches des biochimistes (MACHEBŒUF et ses élèves) sur les cénapses du sérum sanguin.

Du point de vue cytologique, le problème de l'extraction benzénique pouvait présenter certaines difficultés en raison de l'instabilité morphologique du chondriome : afin de conserver la topographie générale, nous avons procédé à la fixation formolée préalable.

La technique que nous avons suivie se ramène à un principe très simple : nous modifions la technique IV A de Regaud en interposant un bain délipidant entre le bain de formol et celui de bichromate; la solution délipidante est constituée, soit par de l'eau pure saturée de benzène, soit par de l'eau benzinée alcoolisée à 10 ou 20 p. cent.

1° Délipidation postformolée effectuée avec l'eau pure saturée de benzène (durée : 1 heure 30).

La sidérophilie du cytoplasme est atténuée; le chondriome est beaucoup moins empâté que chez les témoins; certaines coupes d'*Allium sativum* L. sont fort belles : le benzène semble avoir opéré

un « décrassage », tout en accentuant l'individualisation du chondriome au sein du cytoplasme.

2° Délipidation postformolée prolongée, effectuée avec l'eau benzinée alcoolisée (durées : 24 à 72 heures).

Les méristèmes de Lupin et d'Ail se comportent différemment.

a) LUPIN.

A l'optimum de postchromisation, les colorations sont d'une finesse inégalée chez les témoins; *le chondriome est absolument intact au sein du cytoplasme délipidé.*

Certaines coupes surchromées ont un tout autre aspect : les chondriocotes ont, pour la plupart, fait place à des chaînettes de grains; les chondriomites ne peuvent être, en pareille circonstance, attribués à une altération.

Ces expériences démontrent la structure granulaire masquée du chondriocote normal, invisible dans les coupes chromées à l'optimum, mais susceptible d'être révélée par la surchromisation. Les figures de granulisation, antérieurement décrites après action du benzène sur la cellule *vivante*, n'en gardent pas moins leur valeur, car elles se manifestent à tous les stades de la postchromisation.

b) AIL.

Contrairement à ce que nous avons observé chez le Lupin, la délipidation alcool-benzénique prolongée est très défavorable au méristème d'Ail : le cytoplasme, beaucoup moins résistant que celui du Lupin, se rétracte et se vacuolise; le chondriome reste toujours visible mais son intégrité morphologique est plus ou moins respectée.

3° Synthèse des résultats précédents et application pratique : Perfectionnement de la technique mitochondriale de Regaud.

Nous avons démontré que la majorité des lipides assurant la colorabilité du *chondriome* est inextractible par le benzène employé seul ou additionné d'alcool : ces lipides font donc partie de cénapses extraordinairement stables. Mais à côté de ces dernières existent, ne

l'oublions pas, des cénapses très labiles que révèlent les figures de lipophanérose benzénique observées antérieurement (*pages* 23 et 56). En résumé, le chondriome est constitué par un système lipido-protidique hétérogène, avec une prédominance de cénapses très stables alcoolo-benzéno-résistantes.

La délipidation est nettement plus accusée au niveau du *cytoplasme* qui semble « décrassé » par la destruction de ses cénapses les plus labiles.

Un autre point important est le comportement différent des deux espèces végétales étudiées, lié à la composition du liquide extractif (présence ou absence d'alcool) et à la durée de l'extraction; les meilleurs résultats ont été obtenus : 1° chez *Allium sativum* L., après 1 heure 30 de séjour dans l'eau pure saturée de benzène, 2° chez *Lupinus albus* L., après 48 heures de séjour dans l'eau benzinée alcoolisée à 20 p. cent. Ainsi effectuée, la délipidation postformolée apporte un perfectionnement notable à la technique mitochondriale de Regaud : la sidérophilie atténuée du cytoplasme, l'extraordinaire finesse du chondriome facilitent beaucoup l'étude cytologique.

L'existence de conditions optima de délipidation, si différentes pour l'Ail et pour le Lupin, atteste que la stabilité des cénapses lipido-protidiques homologues peut varier d'une espèce végétale à l'autre : c'est là un nouvel aspect physico-chimique de la diversité des cellules.

D. — OBSERVATIONS VITALES

1° Action plasmolysante de l'eau benzinée saturée.

La plasmolyse a été observée vitalement sur une Spirogyre et dans la feuille d'*Elodea canadensis* Rich.

2° Action d'une dose de benzène non toxique sur la perméabilité de la feuille d'*Elodea canadensis* Rich.

Nous avons d'abord déterminé une dose de benzène active qui ne provoque jamais de modifications cytologiques irréversibles; l'eau benzinée diluée au quart (durée d'action : 1 heure) répond à cette condition.

Nous avons eu recours, avec quelques modifications de détail, à la méthode de N. HARVEY basée sur la pénétration d'une solution titrée de soude dans la feuille d'*Elodea canadensis* Rich. préalablement colorée par un indicateur (rouge neutre) : l'eau benzinée diluée au quart facilite la pénétration de la soude en diminuant la résistance des couches cellulaires limitantes. Après 24 heures de retour dans l'eau, la résistance à l'alcali est redevenue normale.

En résumé, l'eau benzinée diluée au quart augmente la perméabilité de manière réversible.

3° Action du benzène sur les chondriosomes des écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L.

Nous avons perfusé ces dernières, soit avec de l'eau de conduite saturée de benzène, soit avec la solution de Ringer saturée de benzène.

En milieu *hypotonique* nous avons observé une vésiculation initiale très fugace suivie d'une granulisation des chondriocontes : les grains formés, extrêmement fins, ne tardent pas à s'agglutiner.

En milieu *isotonique*, à l'exception de quelques rares mitochondries qui se gonflent dès les premières minutes, nous n'avons pas observé de vésiculation préalable ; les chondriocontes subissent une granulisation directe : les grains restent d'abord reliés par un fin stroma réfringent, puis se séparent vers la 40^e minute ; enfin ils s'associent en courtes chaînettes (« faux chondriomites ») ou s'agglutinent en amas.

§ II. — RECHERCHES MORPHOLOGIQUES EFFECTUÉES SUR *LUPINUS ALBUS* L.

Nous avons d'abord étudié le développement normal du Lupin blanc et notamment l'évolution de l'appareil racinaire : nous avons montré que l'apparition des radicules est directement liée à la dégénérescence plus ou moins précoce de la radicule.

1° Action du milieu hypotonique sur la croissance de la racine.

Des jeunes pousses, développées sur coton humide, sont portées dans une dilution au demi d'eau de rivière de Montpellier et d'eau

distillée (ce milieu, très hypotonique, a un Δ de 0,03) : en quelques minutes les racines deviennent turgescentes, avec prédominance du phénomène dans la région subterminale; en quelques heures l'aspect redevient normal et la croissance se poursuit dans les meilleures conditions : les troubles transitoires d'origine hypotonique, antérieurement décrits dans le chondriome et le vacuome du méristème, n'ont aucune répercussion défavorable sur la croissance de la radicule.

2° Action du benzène sur la morphologie et le développement.

La plupart de nos observations ont été effectuées dans des conditions expérimentales analogues à celles de nos expériences cytologiques.

ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE (DURÉES : 1 HEURE A 1 H. 30)

Au sortir du réactif la radicule est toujours flaccide et sa croissance est définitivement arrêtée; la zone subterminale devient fili-forme; au delà de cette zone, dans un certain nombre de cas seulement, apparaissent des radicelles monstrueuses (planche XX, fig. *b*).

Le développement des axes hypo- et épicotylé est très retardé; on note la fréquence d'anomalies foliaires (feuilles à nombre pair de folioles, les feuilles normales étant, rappelons-le, du type impair).

ACTION DE L'EAU BENZINÉE DÉDOUBLÉE (DURÉES : 1 HEURE A 1 H. 30)

Cette action, qui s'exerce à la limite de la toxicité, a fait l'objet d'une étude approfondie.

La croissance de la radicule est généralement très ralentie, parfois même arrêtée.

Les diverses modifications morphologiques de la radicule (*page 93*) révèlent l'hypersensibilité de la zone subterminale.

L'eau benzinée dédoublée stimule transitoirement la formation des radicelles : ces dernières sont plus vigoureuses (planche XVIII, fig. *c*) que celles des témoins.

Nous avons tenté d'apporter une contribution au problème de « l'inhibition corrélative » : on admet couramment que le méristème apical en *cours de prolifération* inhibe la sortie des radicelles; dès

que l'activité de ce dernier se ralentit (par exemple sous l'action du benzène) ou s'arrête, les radicelles apparaissent. La stimulation benzénique ne serait alors qu'un processus banal de « levée d'inhibition ». Nous avons montré, par une expérience fort simple effectuée avec l'eau benzinée dédoublée, que cette interprétation est insuffisante; nous disposons de 4 lots de plantules : témoins non décapités, témoins décapités (par section du méristème apical), pièces benzinées non décapitées, pièces benzinées décapitées. Le maximum de stimulation n'est pas obtenu par la simple décapitation, mais par l'action *additive* du benzène et de la décapitation; aussi peut-on inférer (page 103) qu'il existe un facteur de stimulation indépendant de l'élimination du sommet végétatif.

L'eau benzinée dédoublée n'a pas modifié, en général, le développement des axes hypo- et épicotylé.

ACTION DE L'EAU BENZINÉE DILUÉE AU QUART

a) *Action de courte durée (1 à 2 heures).*

Les effets sont moins marqués que ceux de l'eau benzinée dédoublée, mais tout à fait comparables (croissance ralentie, stimulation transitoire des radicelles, action additive du benzène et de la décapitation, etc.).

b) *Culture prolongée sur milieu de Shive benziné au quart de saturation.*

La croissance est considérablement ralentie; le traitement benziné prolongé tuméfie toute la partie adulte de la racine (planche XXIV, fig. b); des coupes transversales, effectuées sur le frais, révèlent une hypertrophie diamétrale des cellules.

CHAPITRE DEUXIÈME

DISCUSSION ET INTERPRÉTATION DE QUELQUES
FAITS

§ I. — ACTION DE L'EAU

1^o Rôle de la pression osmotique.

Nous avons montré qu'un court séjour (1 heure à 1 h. 30) dans l'eau pure, imposé à des racines de Lupin développées à l'air libre, provoque les modifications cytologiques suivantes : cavulation plus ou moins marquée du chondriome, vacuolisation du cytoplasme, apparition de grains sidérophiles dans les vacuoles.

Cavulation du chondriome.

L'analogie de ce phénomène avec certaines figures myéliniques a été relevée par de nombreux auteurs. Nous nous bornerons, pour notre part, à un rapprochement d'ordre biochimique : HATTORI (130) a étudié, avec l'ultramicroscope, l'action de l'eau distillée et des solutions salines isotoniques sur les suspensions mixtes de lécithine et de cholestérol; en milieu hypotonique la lécithine se gonfle et tend à se séparer du cholestérol; en milieu chloruré isotonique le gonflement est beaucoup moins marqué, et le mélange des deux constituants reste stable. Il y a une analogie incontestable entre ces processus de gonflement et la cavulation des chondriosomes; notons toutefois que l'hypotonie n'a jamais fait apparaître d'inclusions osmio-réductrices dans le méristème du Lupin: en d'autres termes, la cavulation « hypotonique » donne lieu à des figures pseudo-myéliniques dont l'interprétation doit être très prudente.

Vacuolisation du cytoplasme et précipitations intravacuolaires.

Le milieu hypotonique confère parfois au vacuome (page 16, figure 1), des aspects qui évoquent les grains de sécrétion de cer-

taines cellules animales. Or il est intéressant de rappeler les travaux de PARAT et PAINLEVÉ (226) qui ont conduit ces auteurs à assimiler les grains de sécrétion des cellules animales au vacuome des cellules végétales. Cette conception obtint l'adhésion enthousiaste de GUILLIERMOND (II, p. 12; 8, pp. 30 à 32; 9, pp. 59 à 61, et pp. 91 à 95) d'autant plus que les observations vitales de G. LEVI (162) avaient déjà suggéré l'absence de « continuité matérielle » entre le chondriome et les grains de sécrétion. ⁽¹⁾

Le fait que les grains de sécrétion apparaissent dans les vacuoles n'exclut d'ailleurs pas une participation indirecte du chondriome dans les phénomènes sécrétoires : d'après PARAT (226, p. 333), le vacuome ne serait « qu'un centre de condensation de certaines substances, une sorte de creuset » ou s'achèvent des opérations commencées dans le cytoplasme sous l'action du chondriome; et GUILLIERMOND complète les observations de PARAT par les remarques suivantes : « si nous rapprochons ces faits de ceux que nous avons constatés dans les cellules végétales, nous pourrions supposer que la formation des vacuoles (*dans les cellules animales*) serait liée au phénomène sécrétoire lui-même » (GUILLIERMOND, 9, p. 61); « les divers aspects du système vacuolaire sont réversibles et semblent sous la dépendance de l'état d'imbibition plus ou moins grand du cytoplasme » (GUILLIERMOND, 9, p. 91). Enfin, dit GUILLIERMOND (9, p. 95), le système vacuolaire doit être rattaché « aux substances transitoires provenant de l'élaboration du cytoplasme »; « ces données éclairent d'un jour nouveau les phénomènes sécrétoires » (loc. cit.).

A la lumière de ces remarques, nous croyons pouvoir situer nos propres résultats : les modifications du vacuome méristématique de *Lupinus albus* L. ⁽²⁾ (en particulier les précipitations sidérophiles intravacuolaires), observées en milieu hypotonique, nous paraissent refléter un processus *sécrétoire*.

LEPESCHKIN ayant d'autre part montré (160) que les milieux hypotoniques provoquent, dans le protoplasme, d'importantes dislocations moléculaires, il est permis d'entrevoir le rôle des perturbations

⁽¹⁾ L'origine mitochondriale des produits d'élaboration semble toutefois démontrée dans quelques types de cellules animales : citons les travaux de NOEL sur la protéogénèse et la lipogénèse mitochondriales dans la cellule hépatique des Mammifères et chez le Bombyx du mûrier (23, 218, 219, 220, 221).

⁽²⁾ Rappelons que nos observations ont été effectuées dans les cellules du plérome méristématique (page 16) qui, normalement, sont très peu vacuolisées.

osmotiques dans les phénomènes sécrétoires. Deux autres faits semblent justifier ce rapprochement : la perméabilisation cellulaire résultant de l'imbibition aqueuse (*page 15*) est comparable à celle qui a été observée par de nombreux auteurs au cours des sécrétions glandulaires; on connaît d'autre part l'extrême sensibilité des glandes aux variations de pression osmotique (travaux classiques de DEMOOR).

Toutes ces données ont conduit notre Maître, M. le Professeur TURCHINI, et nous-même (258) à nous demander si le déclenchement des sécrétions glandulaires n'était pas lié pour une part à des variations osmotiques d'origine physiologique; mais ce n'est là, dans l'état actuel de nos recherches, qu'une « idée expérimentale », et nous nous abstenons de toute généralisation hâtive.

2° Rôle de la variation du milieu.

Nous avons montré (*page 17*) que le chondriome de la racine de Lupin développée à l'air libre, puis cultivée dans un milieu très hypotonique, manifeste un pouvoir d'adaptation remarquable; en d'autres termes, les figures de cavulation n'apparaissent que transitoirement sous l'effet du brusque changement de milieu que représente le passage de l'air à l'eau pure. Or ce fait nous paraît d'une grande importance pratique : la végétation terrestre est constamment soumise aux variations de pression osmotique de la solution du sol, corrélatives du régime des pluies et susceptibles de modifier réversiblement la structure fine de la cellule; ces modifications cytologiques ont vraisemblablement des répercussions sur le métabolisme; nous sommes ainsi amené à concevoir le caractère dynamique de la cellule sans cesse modifiée au rythme des variations (même très faibles) du milieu extérieur, et nous voyons transposé, à l'échelle du chondriome, le caractère de plasticité mis en évidence par MOLLIARD dans le domaine de la morphogenèse végétale.

§ II. — ACTION DU BENZÈNE

Le benzène est un narcotique (*page 19*); à ce titre il fait partie d'un groupe assez hétérogène de substances (hydrocarbures, éther,

chloroforme, alcools de la série grasse, etc.) dont l'action physiologique, rapportée par de nombreux auteurs à leurs propriétés tensionnelles négatives, est encore très obscure : en fait, dit J. RÉGNIER (7, p. 463), « on ignore ce qu'est la narcose ».

L'étude des modifications produites dans les cellules végétales par les narcotiques solvants, entreprise par PICARD (24), ROLLEN (25) et nous-même, est susceptible d'apporter une contribution à cet important problème.

A. — ACTION DU BENZÈNE SUR LE CYTOPLASME ET LE CHONDRIOME

Il est intéressant d'étudier comparativement les modifications cytologiques produites par les divers narcotiques (ces derniers étant utilisés en solutions aqueuses saturées ou diluées) : tous *granulisent initialement le chondriome* ; la suite des altérations est variable et dépend essentiellement de la tension négative de la solution : le chondriome primitivement granulé se *vésiculise* d'autant plus que la tension superficielle du milieu est plus basse (règle de ROLLEN, 25) ; remarquons incidemment que cette vésiculation du chondriome est un processus distinct, bien que morphologiquement analogue à la cavulation d'origine hypotonique.

Le cas fort simple de l'eau benzinée saturée s'accorde avec la règle de ROLLEN : la granulation benzénique n'est pas suivie de vésiculation (*pages 22 et 55*) ; tout au plus avons-nous constaté, chez *Allium sativum* L., un léger gonflement des grains) ; or nous avons déjà mentionné que le benzène n'influence pas sensiblement la tension superficielle de ses solutions aqueuses (*page 19*), sans doute à cause de sa faible solubilité : la tension superficielle de l'eau benzinée saturée, mesurée par la méthode stalagmométrique (compte-gouttes de Duclaux) ne diffère pas de celle de l'eau pure.

Le rôle de la tension superficielle est plus difficile à définir à l'égard du *cytoplasme* ; on peut cependant inférer que, d'une manière générale, les solutions de narcotiques sont d'autant moins plasmolytiques qu'elles sont plus tensionnelles négatives (tableau 18, *page 121*).

On peut schématiser l'action des divers narcotiques solvants sur le cytoplasme et le chondriome ; les indications du tableau 18 (*page 121*)

TABLEAU 18

Divers types d'altérations cytoplasmiques et mitochondriales observées sous l'action
des narcotiques solvants

Ordre des tensions superficielles dé- croissantes (mé- surées par la mé- thode stalagno- métrique Eau distillée = 100 gouttes)	Désignation de la substance	Auteur	Altérations maxima constatées dans le <i>cytoplasme</i> Plasmolyse Aspect général du cyto- plasma	Possibilité de vési- culation du <i>chon- driome</i> (après granulisation)
100 gouttes	Eau benzinée saturée	MEÏTÈS PICARD (24) ROLLEN (25) PICARD ROLLEN	+	—
105 »	Eau chloroformée saturée		+	—
110 »	Eau saturée de chlorure d'éthyle		+	—
140 »	Eau saturée d'éther		+	—
140 »	Solution d'hydrate d'amylène à 1 p. cent		—	—
170 »	Alcool éthylique à 20°	ROLLEN	—	+
190 »	Solution d'hydrate d'amylène à 5 p. cent	ROLLEN	—	±
220 »	Eau saturée d'alcool isoamylique	ROLLEN	±	+
220-230 gouttes	Eau saturée d'octanol	ROLLEN	—	+
240-250 »	Alcool à 20° saturé d'octanol	ROLLEN	—	+

établi en suivant l'ordre des tensions superficielles décroissantes concernent : 1° les altérations maxima constatées dans le cytoplasme, 2° le comportement du chondriome immédiatement après la granulation.

Un examen attentif de ce tableau permet de tirer de notre étude comparative la conclusion que l'action du benzène sur le *cytoplasme* est analogue à celle du chloroforme, de l'éther, de l'alcool isoamylique.

L'action du benzène sur le *chondriome* est analogue à celle du chloroforme, du chlorure d'éthyle, de l'éther, et de l'hydrate d'amylène employé aux faibles concentrations.

Comment le benzène agit-il ?

On connaît depuis longtemps la grande vitesse de pénétration des hydrocarbures (dont le benzène est le type) à l'intérieur de la cellule vivante. Quel est le point d'attaque de ces substances hydrophobes ? Il est logique de supposer en premier lieu que le benzène, solvant des lipides par excellence, a une action élective sur les lipides cellulaires.

C'est CZAPEK qui, le premier, a fait ressortir la grande richesse en lipides du protoplasme des cellules végétales : il a même admis, dit MACHEBŒUF (20), que le protoplasme embryonnaire au niveau des centres végétatifs des Phanérogames était un « lipoplasme ». Or l'existence des lipides cellulaires est caractérisée par leur état physico-chimique particulier : ils sont « enchaînés » à d'autres constituants, en particulier les protides, et forment des complexes plus ou moins stables où ils sont masqués à leurs réactifs habituels ; d'autre part la perméabilité cellulaire est toute entière dominée par la présence de lipides au niveau des couches limitantes. Pour ces diverses raisons, nous avons jugé utile de rappeler, en une brève mise au point, les connaissances actuelles sur les complexes lipido-protidiques.

1° Historique sommaire des complexes lipido-protidiques.

ÉTAT SPÉCIAL DES LIPIDES DU SÉRUM SANGUIN

L'action de l'alcool éthylique sur les cénapses lipido-protidiques du sérum sanguin a déjà fait l'objet d'un exposé (page 41), et nous n'y reviendrons pas ; rappelons seulement qu'après avoir étudié l'éthéro-alcool-résistance à froid des diverses cénapses sériques,

MACHEBŒUF et SANDOR fondèrent une théorie qui devait s'avérer extrêmement féconde : dans certaines cénapses, les lipides et les protides seraient liés par « solvatation » (adsorption) réciproque de leurs chaînes polyméthyléniques homologues.

Lors de récents travaux, TAYEAU (élève de MACHEBŒUF) a pu apporter de nouveaux arguments en faveur de cette théorie, en étudiant l'action des savons. L'état d'adsorption réciproque des chaînes lipidiques et protidiques implique en effet la possibilité d'un « décollement » au moyen d'une tierce substance polyméthylénique hydro-soluble qui, ajoutée en quantité suffisante, serait susceptible de prendre la place des lipides solvatés ; ces derniers, mis en liberté, seraient alors extractibles par l'éther ; exemple : MACHEBŒUF et TAYEAU montrent que l'éther, en présence de divers savons (oléate de Na, dibromostéarate de K, etc.), est susceptible d'extraire du sérum une notable proportion de lipides (60 à 90 p. cent) (172, 173, 174, 249, 175, 176). Il existe une concentration optima en savon pour laquelle l'extrait éthéré total est maximum : en effet, un grand excès de savon risque de dissoudre les lipides libérés ; à l'optimum, certains savons délipident la totalité des protides sériques, sauf les cénapses acido-précipitables (176 ; 27, p. 115 et p. 127).

MACHEBŒUF et TAYEAU précisent (175) que l'action des divers savons, comme celle de l'alcool, n'est pas spécifique d'une substance lipoïdique ou d'une autre, et il faut admettre, disent-ils, que l'action porte « sur une propriété des protéides et non des lipides qui leur sont liés ».

Existe-t-il un parallélisme entre l'extractibilité des lipides sériques par l'alcool éthylique d'une part, par les savons d'autre part ? On peut répondre par la négative : l'éther alcoolisé employé par MACHEBŒUF et SANDOR, puis par DELAGE, n'extraît que 50 p. cent des lipides totaux du sérum ; certains savons employés par TAYEAU en enlèvent 80 à 90 p. cent (27, p. 115). Cette différence s'explique surtout par le comportement variable des cénapses globuliniques qui sont détruites par les savons (176), mais sont respectées par l'éther alcoolisé (73). Il apparaît donc que la stabilité d'une cénapse est une propriété toute relative, essentiellement conditionnée par la nature de la substance extractive (alcool, savons divers, etc.).

Quels sont les facteurs déterminants de cette stabilité ? Les plus récentes recherches de TAYEAU semblent apporter la clef du problème :

les liaisons d'adsorption entre lipides et protides appartiennent à plusieurs types, exemple : le cholestérol est formé d'un noyau polycyclique porteur d'une chaîne latérale aliphatique; il y a donc deux possibilités d'accollement sur les groupements de forme semblable (cyclique ou linéaire) existant dans les molécules protidiques. TAYEAU substitue aux savons des substances hydrosolubles à noyau polycyclique, saponosides (250) et sels biliaires (251) : ces dernières, introduites à doses convenables, brisent spécifiquement certaines cénapses qui résistaient aux savons; elles respectent, par contre, les cénapses phosphatidiques que les savons détruisent. Une règle d'homologie domine l'extractibilité des lipides par telle ou telle substance : les savons, avec leur chaîne linéaire, décolleront les lipides à chaîne linéaire (phosphatides, graisses neutres) et, parmi les stérols, ceux qui sont accolés aux protides par leur chaîne latérale aliphatique; mais les stérols « solvatés » par leur noyau polycyclique ne seront pas touchés. Si, au lieu de savons, nous utilisons des saponosides ou des sels biliaires (substances à noyau stérolique), ces dernières détacheront quantitativement les stérols accolés par leurs cycles, en se solvant à leur place sur les cycles des protides; mais dans ce cas ne seront pas touchés les stérols liés aux protides par solvation de leur chaîne latérale, ni aucun autre lipide à chaîne linéaire.

Nous avons cru devoir insister quelque peu sur les résultats des belles recherches de MACHEBŒUF et de ses élèves; ils éclairent une série de faits cytologiques occupant une place importante dans la bibliographie de ces dernières années : ces faits seront résumés un peu plus loin (pages 130, 131, 132).

ÉTAT SPÉCIAL DES LIPIDES CELLULAIRES (CYTOPLASMIQUES ET MITOCHONDRIaux)

HOPPE-SEYLER, en 1866, constate que les lipides des tissus ne peuvent être extraits par de simples lavages avec l'éther, à moins d'un traitement préalable par l'alcool chaud; cet auteur envisage l'existence de complexes lécithines-albumines.

REGAUD, de 1908 à 1913 (234, 235, 236, 237, 232), met au point sa technique mitochondriale en étudiant les tubes séminifères du Rat : « si, dit cet auteur (235), entre la fixation (*par le picroformol*) et la chromisation, on traite les pièces par l'alcool éthylique, il devient

impossible de colorer ensuite dans les coupes les formations mitochondriales... ». Et REGAUD suppose que les substances mitochondriales peuvent être rangées « dans le groupe des lipoides ou des lipo-protéides solubles dans l'alcool ». Le mordantage chromique, consécutif à la fixation, a précisément pour but d'insolubiliser les mitochondries. Confirmant ces premiers résultats, REGAUD et POLICARD montrent (232) qu'un traitement (d'une durée de 7 jours) par l'alcool à 90° intercalé entre le formol et le bichromate diminue l'aptitude des mitochondries à fixer le chrome.

Vers la même époque FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER font part, eux aussi, de leur conviction que les mitochondries sont constituées par des complexes d'adsorption de lipides et « d'albumines » (92, 91, 90). Leur raisonnement, très simple, peut se résumer ainsi : *in vivo* les mitochondries sont insolubles dans les solvants des graisses, d'autre part les mitochondries fixées donnent les mêmes réactions et les mêmes colorations que les acides gras libres adsorbés *in vitro* sur des albumines. FAURÉ-FREMIET (90) étudie aussi la colorabilité du chondriome après passage dans les solvants des graisses (alcool, éther, chloroforme, acétone). Les propriétés « démasquantes » de l'alcool étant peu connues à cette époque, FAURÉ-FREMIET ne considérait alors que ses propriétés de solvant : il emploie indifféremment l'alcool froid (à la température du laboratoire) ou l'alcool chaud (à la température de 45°); sans doute ne pouvait-il prévoir le rôle de la température élucidé plus tard par BIEDERMANN; nous avons néanmoins relevé dans son mémoire d'intéressants détails : étudiant les mitochondries des Protozoaires, FAURÉ-FREMIET montre que, « après séjour dans l'alcool et l'éther, les mitochondries peuvent encore être colorées par les méthodes de Benda et à l'osmium réduit-violet de gentiane » (90, p. 505). Bien que la température du bain d'alcool ne soit pas spécifiée, il est intéressant de retenir l'alcoolorésistance des mitochondries des Protozoaires. Ce résultat n'est pas confirmé par l'étude mitochondriale des Insectes et des Gastéropodes, car FAURÉ-FREMIET constate, après fixation par l'acétone, ou l'alcool, ou le chloroforme, que les mitochondries de ces derniers ne sont plus colorables par les méthodes spéciales, ou extrêmement peu (90, p. 549). Il semble donc que la stabilité des complexes lipido-protidiques mitochondriaux donne lieu à des variations, en rapport avec l'espèce cellulaire étudiée.

Quant à la nature des lipides mitochondriaux, FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER s'élèvent contre l'hypothèse (généralement admise à cette époque et qui devait prévaloir pendant près de 30 ans !) de la présence exclusive de phosphatides : « les mitochondries, disent-ils, peuvent très bien être constituées par un mélange de corps gras » (93, p. 96). MAYER, SCHAEFFER et RATHERY envisagent même la présence de cholestérol (189), fait confirmé tout récemment par MENKE et JACOB (voir page 137).

Les travaux de BIEDERMANN (44, p. 381) sont importants pour le sujet de nos recherches : des feuilles d'Epinaud sont, après décoction, exprimées, lavées et mises à macérer dans l'alcool pendant une semaine, à la température ordinaire ; elles sont ensuite épuisées par le chloroforme pendant 3 à 4 heures : un tel traitement ne parvient pas à vider complètement les cellules parenchymateuses, et les stromas des chloroplastes restent parfaitement reconnaissables. Dans une autre série d'essais, l'action de l'alcool froid est suivie d'une digestion trypsique : là aussi le stroma des chloroplastes est respecté, preuve que les protides sont protégés du ferment par les lipides auxquels ils sont intimement unis ; en somme les chloroplastes de l'Epinaud sont alcool-résistants à froid. Par contre l'alcool bouillant provoque la ségrégation totale des lipides : après élimination de ces derniers par l'éther et le chloroforme, on peut obtenir la digestion trypsique intégrale des protides (44, p. 382).

Les recherches de BIEDERMANN sur le pouvoir lipophanérogène du thymol (45) sont beaucoup plus connues. Enfin cet auteur montra que les complexes lipido-protidiques des cellules végétales sont plus stables que ceux des cellules animales.

WALTER (265) étend à de nombreux végétaux, dont les Myxomycètes, les importants résultats de BIEDERMANN.

L'œuvre de LEPESCHKIN est celle d'un cytologiste et d'un biochimiste remarquable, fort intéressante, mais un peu confuse. Après avoir montré (149) que l'éther, avec ou sans alcool, est incapable d'extraire la totalité des lipides du plasmode de *Fuligo varians*, LEPESCHKIN tente l'isolement d'un complexe lipoprotidique défini (plasmatine) : le plasmode desséché à l'exsiccateur est épuisé par l'eau ; la fraction insoluble est épuisée et partiellement délipidée par l'alcool-éther (149, p. 133 ; l'auteur ne donne aucune indication de température). On obtient ainsi la « plastine » qui, soumise à l'hydro-

lyse sulfurique (5 p. cent SO^4H^2), libère divers amino-acides et laisse un résidu inattaqué, la « plasmatine », complexe lipo-protidique extrêmement stable (149, p. 135); la plasmatine n'est hydrolysable que par l'acide sulfurique très concentré (30 p. cent), libérant alors des amino-acides et un mélange de phytostérol et d'acides gras.

La plasmatine n'est qu'un des nombreux constituants lipido-protidiques cellulaires; sa présence n'exclut pas celle d'autres complexes beaucoup plus labiles dissociables par l'éther additionné ou non d'alcool; certains de ces derniers seraient même si instables, suggère LEPESCHKIN, que, semblables à des substances explosives, ils se décomposeraient sous l'influence d'interventions mécaniques (151, p. 240). LEPESCHKIN est de plus en plus convaincu que les complexes lipido-protidiques *les moins stables* représentent l'élément vital du protoplasme et les nomme « Vitaprotéïdes » (en abrégé « Vitaïdes ») (154, p. 146).

Utilisant les récentes acquisitions de la physique colloïdale, LEPESCHKIN étudie, de 1939 à 1942, les propriétés des Vitaïdes protoplasmiques; voici, brièvement résumés, le principe et les résultats de ses étonnantes recherches (156, 157, 158, 159, 160, 161) : la lumière infra-rouge est déviée lorsqu'elle frappe un complexe moléculaire à longues chaînes polyméthyléniques; un faisceau cylindrique, tombant sur un parenchyme de feuille ou de tige, sur une suspension de levures ou d'hématies, devient conique à la sortie : l'ampleur de la dispersion longitudinale est en rapport avec le poids moléculaire des chaînes polyméthyléniques traversées, et peut être mesurée par la surface du cercle de dispersion ayant impressionné une plaque photographique disposée à une certaine distance de la préparation (Effet PLOTNIKOW de dispersion longitudinale, 156). D'après LEPESCHKIN, l'effet PLOTNIKOW est essentiellement provoqué, dans les tissus, par les chaînes lipido-protidiques des « Vitaïdes » dont le poids moléculaire peut être déterminé par comparaison avec des étalons d'hémocyanine, exemple : la Vitaïde de levure aurait un poids moléculaire de 107.000.000 (159, p. 74).

L'effet PLOTNIKOW reflète fidèlement toutes les variations moléculaires de la Vitaïde; or celle-ci est très *instable* : la moindre altération cellulaire diminue l'effet de dispersion, traduisant une baisse du poids moléculaire de la Vitaïde; la dislocation de cette dernière peut être partielle et réversible (action ménagée des narcotiques,

156, 157; action des milieux hypotoniques, 160), mais l'altération de la Vitaide est irréversible si son poids moléculaire tombe au-dessous d'une certaine limite : LEPESCHKIN est ainsi parvenu à définir quantitativement la mort cellulaire.

Les travaux de CIACCIO (1926) démontrent le pouvoir lipophanérogène des substances suivantes : alcools méthylique et éthylique, sels de métaux lourds, phénol, solutions acides et alcalines, ferments protéolytiques (58); mais l'état « masqué » des lipides cellulaires n'inspire à cet auteur que des idées assez obscures : il admet (58) que les « lipoides » se trouvent dans un état très dispersé qui les dissimule aux réactifs histo-chimiques; le démasquage consiste, selon CIACCIO, à les rassembler en un état moins dispersé qui les rend histochimiquement décelables. Nous voyons qu'aucune allusion n'est faite à l'extractibilité, ou l'inextractibilité, de ces lipides « masqués » au moyen des solvants habituels (éther, chloroforme, benzène); la lipophanérose selon CIACCIO ne correspond pas à la définition précise des biochimistes. Il semble que cet auteur n'a pas douté (tout au moins jusqu'à une date récente) de l'extractibilité par l'éther ou le chloroforme de la totalité des lipides cellulaires, fussent-ils *histochimiquement* masqués. Ce n'est qu'en 1936, c'est-à-dire deux ans après la publication de sa technique de détection des phosphatides après extraction acétono-cadmique, que CIACCIO aborde le problème de l'extractibilité des histolipides au moyen des solvants : il fait part (60) de ses recherches, d'ordre biochimique, sur les foies de Lapin et de Rat dont les lipides ne sont extractibles qu'en présence d'alcool ou d'acétone; ce travail, où il est fait allusion aux cénapses de MACHEBOEUF, confirme ainsi des faits connus.

L'état des lipides dans les couches cellulaires limitantes a suscité de passionnantes recherches : la présence, dans toutes les cellules, d'une couche limitante différenciée (membrane plasmique) chargée de régler la perméabilité du protoplasme, était supposée depuis longtemps grâce au théorème de GIBBS et aux célèbres expériences de microdissection de CHAMBERS et REZNIKOFF. Mlle CELAN (52, 53, 54) a définitivement démontré l'existence de cette membrane plasmique; voici le résumé de ses travaux :

MANGENOT avait signalé que les cellules des Algues Rouges présentent de larges ouvertures au niveau desquelles les cytoplasmes voisins s'affrontent sans se confondre (plasmodemes); dans la zone

de contact, le cytoplasme est différencié sous forme d'une membrane lipidique très sidérophile [membrane synaptique ⁽¹⁾ de MANGENOT]; or cette membrane « n'est que l'exagération d'un dispositif existant d'une manière très discrète autour de toute la cellule » (53); en d'autres termes, c'est un « épaissement localisé » de la membrane plasmique (54, p. 134) : alors que la membrane plasmique ne dépasse pas le 1/100 de μ , la membrane synaptique peut avoir une épaisseur considérable, ce qui la rend parfaitement accessible à une étude cyto-chimique; on comprend alors tout l'intérêt d'une telle étude dont les résultats seraient généralisables à toute la couche superficielle du cytoplasme. La membrane synaptique serait, d'après Mlle CELAN (54, p. 131 et p. 156), constituée de « protéides associés à un grand excès de lipides divers, spécialement des phosphoaminolipides ». Cet auteur fait quelques observations fragmentaires, mais extrêmement intéressantes, sur la stabilité des liaisons lipides-protéides au niveau des membranes synaptiques d'*Halopitys pinastroides* Gmel. : il constate que les lipides synaptiques sont osmioréducteurs (54, p. 131) et peuvent être complètement ou à peu près complètement enlevés par les différents solvants de ces substances (alcool absolu, acétone, etc.; 54, p. 64 et p. 131). On peut regretter que cet auteur ne donne pas de précisions sur le mode et la température de l'extraction lipidique; certaines délipidations paraissent avoir été conduites à froid (54, p. 64 et p. 131) et on serait tenté de conclure que, abstraction faite d'une faible fraction alcool-résistante, les associations lipido-protéidiques des membranes synaptiques (et, par extension, de la membrane plasmique) sont extrêmement labiles : l'instabilité physico-chimique des couches superficielles du cytoplasme serait ainsi démontrée; pareil fait mériterait confirmation, car il paraît dominer tout le problème de la perméabilité (page 133).

La nature lipido-protéidique de la membrane plasmique a d'ailleurs été présumée depuis longtemps; en effet l'accumulation aux interfaces n'est pas une propriété exclusive des lipides : le physico-chimiste RAMSDEN (233) a montré que les protéides sont notablement

(1) Les membranes synaptiques de deux cytoplasmes voisins forment un couple appelé *synapse*, tout comme au niveau des articulations neuronales.

adsorbés à la surface de leurs solutions. D'après KOPACZEWSKI (145) et RÉGNIER (7, p. 482 et p. 863) les couches limitantes cellulaires seraient formées de complexes lipidoprotidiques comparables aux cénapses de MACHEBŒUF.

Les couches limitantes cellulaires ont également attiré l'attention des physiciens qui, au cours des cinq dernières années, ont recueilli des précisions tendant à confirmer la théorie de MACHEBŒUF et SANDOR (page 123) : grâce aux récentes acquisitions de la physique colloïdale, les *spectres de diffraction des rayons X* (Ecole de Cambridge; 230, 35), le *microscope polarisant* (Ecole allemande : cf. les importantes mises au point de W. J. SCHMIDT, 241, 242, 243) ont révélé la structure submicroscopique des hématies, des amibes, des œufs d'Oursins, de la gaine de myéline : les couches limitantes du cytoplasme constituent un système stratifié où des films de lipides, en couche mono- ou bimoléculaire, seraient adsorbés sur des films de protides (feuilletage lipidoprotidique). SCHULMAN et RIDEAL, SAIAS (239) ont réalisé in vitro des modèles physiques qui illustrent remarquablement la structure lamellaire mixte des couches limitantes de la cellule : ces auteurs ont montré que certaines associations lipido-protidiques, irréalisables dans les conditions habituelles, deviennent possibles lorsque les molécules sont orientées aux interfaces (interface air-eau par exemple); ils ont ainsi pu mettre en évidence des films superficiels formés de complexes lipides-protides tout à fait comparables aux cénapses de MACHEBŒUF.

Pour compléter notre aperçu historique des lipides cellulaires, il nous faudrait citer les substances qui, étudiées depuis 1926, provoquent une ségrégation des lipides cytoplasmiques et mitochondriaux; nous les avons rassemblées dans le tableau 19 (page 131) [nous avons marqué d'un astérisque les substances dont le pouvoir lipophanérogène a été décelé au niveau des *chondriosomes* (chloroplastes, etc.)]; parmi celles-ci, nous retiendrons particulièrement *l'éther* (BEAVERIE et ses élèves, PICARD), le *chloroforme* (NADSON et MEISL, CORNET, PICARD), et enfin le *benzène* (MEITÈS, voir ici même pages 23 et 56). On notera d'autre part que les *alcools aliphatiques*, certains *savons* (en particulier l'oléate de soude), les *sapnines*, les *sels biliaries* ont un pouvoir lipophanérogène (figures « myéliniques » de BEAVERIE, Fr. WEBER, MENKE, EIBL, etc.) qui est resté

TABLEAU 19

Substances lipophanérogènes

N. B. — Les substances dont le pouvoir lipophanérogène a été décelé au niveau des *chondriosomes* sont marquées d'un astérisque.

	Auteurs
SUBSTANCES MINÉRALES	
Acides*	CIACCIO, 58; MENKE, 199
Alcalis*	CIACCIO, 58
ClNa	Mlle FAURE, 89
Sels de métaux lourds :	
Mercure*, Cadmium*, Uranium*,	
Cobalt*	CIACCIO, 58, 60
Cuivre	GICKLORN, 122
SUBSTANCES ORGANIQUES	
Benzène*	MEITÈS
Ether*	BEAUVERIE, 36; BEAUVERIE et CORNET, 39; CORNET, 61; PICARD, 24
Chloroforme	NADSON et MEISL, 212; COR- NET, 62; PICARD, 24
Chlorure d'éthyle*	ROLLEN, 25
Alcool méthylique*	CIACCIO, 58
Alcool éthylique*	BIEDERMANN, 44; CIACCIO, 58; ROLLEN, 25
Alcools amyliques*	ROLLEN, 25
Alcool octylique primaire*	ROLLEN, 25
Phénol*	CIACCIO, 58
Thymol	BIEDERMANN, 45
Oléate de soude*	Fr. WEBER, 270; MENKE, 199; BEAUVERIE, 37; EIBL, 83
Savons divers*	EIBL, 83
Lécithine*	BEAUVERIE, 36 et 37
Saponines*	BEAUVERIE, 36 et 37
Sels biliaires (glycocholate de Na*)	MENKE, 199
Urée*	MENKE, 199
AGENTS DIVERS	
Pepsine*, trypsine*	CIACCIO, 58

inexpliqué jusqu'à présent; or ce sont précisément ces substances qu'ont utilisées MACHEBŒUF, DELAGE et TAYEAU (voir *pages* 41, 42, 123) pour dissocier quantitativement les diverses cénapses lipido-protidiques du sérum sanguin : les divers faits de lipophanérose cellulaire nous paraissent donc homologables avec les processus de décollement des lipides sériques; la théorie de MACHEBŒUF et SANDOR se trouve une fois de plus confirmée, les faits cytologiques et les faits biochimiques se rejoignent.

2° Action du benzène sur le cytoplasme.

Trois faits principaux ressortent de nos recherches sur les modifications du cytoplasme :

Déshydratation : ne nous occupons pas, pour l'instant, de ce phénomène (voir *pages* 149 et 150).

Désintégration de certaines cénapses lipido-protidiques.

Action sur la perméabilité.

DÉSINTÉGRATION DE CERTAINES CÉNAPSES LIPIDO-PROTIDIQUES DU CYTOPLASME

Elle est révélée par une ségrégation des lipides osmio-réducteurs (planche III, fig. *b*) ou, sous une forme plus discrète corrélatrice d'une délipidation, par la sidérophilie atténuée du cytoplasme (*pages* 21, 26, 55, 60).

On conçoit que tout processus de délipidation, même partielle, affecte principalement les couches limitantes de la cellule, de là l'augmentation de perméabilité à l'égard des ions hydrophiles observée vitalemment d'une part (*page* 82), après fixation formolée d'autre part [*pages* 36 et 60 : réduction du temps de postchromisation ⁽¹⁾].

Ces résultats confirment et complètent les observations antérieures des cytologistes qui ont étudié l'action de l'éther et du chloroforme (*page* 130, et tableau 19 de la *page* 131) : ils démontrent définitivement l'extrême labilité de certaines cénapses lipido-protidiques du cytoplasme,

(1) L'ion *bichromate* ne paraît pas figurer dans les séries lyotropes de HOFMEISTER; mais cet auteur a étudié l'ion *chromate* (136) qui est fortement lyophobe ce qui, rappelons-le, équivaut à une hydrophilie élevée; il nous paraît légitime d'étendre cette propriété à l'ion *bichromate*.

sans exclure, bien entendu, la présence possible de cénapses beaucoup plus stables.

Nos résultats confirment également ceux que LEPESCHKIN a obtenus par une voie toute différente : cet auteur a montré que les narcotiques modifient l'effet PLOTNIKOW des cellules (*page* 127) par une dislocation partielle ou totale de la « Vitaïde » (complexe lipido-protidique du protoplasme) (157, p. 172).

Mlle CELAN ayant d'autre part montré que les lipides des membranes synaptiques des Rhodophycées sont, en majorité, facilement extractibles par les solvants habituels (*page* 129), on peut conclure, à l'opposé de RÉGNIER (7, p. 482 et p. 863), que la *labilité* de certaines cénapses est une propriété générale du cytoplasme et de ses couches limitantes.

Considérations théoriques

Ces divers faits expérimentaux nous permettent d'envisager le problème de la perméabilité d'un point de vue nouveau. Les théories de la perméabilité, basées pour la plupart sur la richesse en lipides des couches cellulaires limitantes, expliquent difficilement le passage de l'eau et des substances hydrosolubles (sels, sucres, amino-acides); or dans les conditions normales de la vie cellulaire, ce sont précisément ces substances qui constituent les éléments principaux des échanges entre les cellules et le milieu extérieur. Les expériences de UNGER (260) sont d'ailleurs significatives : la moëlle épinière de Grenouille, très riche en lipides, est perméable aux sels insolubles *in vitro* dans ces mêmes lipides.

La nécessité d'« assouplir » les théories de la perméabilité s'imposa de très bonne heure; on tenta d'expliquer le passage des substances hydrosolubles par la nature *dynamique* de la membrane plasmique liée à un état colloïdal réversible de ses constituants lipidiques. Selon HØBER (7, p. 346) la cellule manifesterait à l'égard des substances hydrosolubles une « perméabilité physiologique temporaire ». Nous ne nous attarderons pas sur le célèbre modèle physique de CLOWES; cet auteur ayant montré qu'on peut transformer une émulsion d'eau dans l'huile en émulsion d'huile dans l'eau, en modifiant simplement le rapport des ions présents mono- et bivalents, de nombreux physiologistes assimilèrent les couches limitantes cellulaires à ce système *labile* : le premier type d'émulsion serait perméable

aux substances liposolubles, le deuxième, aux substances hydrosolubles.

Les théories d'HANSTEEN-CRANNER (128; 7, p. 796; 7, p. 800) et de DEGKWITZ (20, p. 48) sont des transpositions de la conception de CLOWES : ces auteurs invoquent des processus de *renversement des phases* (hydrophile et hydrophobe) pour expliquer les modifications physiologiques ou expérimentales de la perméabilité cellulaire; les modalités fonctionnelles des lipides seraient liées à leur *état colloïdal* spécial : HANSTEEN-CRANNER démontra effectivement l'existence, chez les végétaux, de certains lipides très particuliers hydrosolubles. A la suite des travaux d'HANSTEEN-CRANNER, H. H. MEYER (7, p. 811), WINTERSTEIN et HIRSCHBERG (274), GELLHORN (7, p. 859) insistent sur l'instabilité des lipides cellulaires; d'après GELLHORN, les variations de perméabilité qui se produisent sous l'action de facteurs externes ou internes peuvent s'expliquer par des changements dans la composition de la membrane plasmique et par la labilité des colloïdes de cette membrane.

Mais MACHEBŒUF (20) s'éleva avec vigueur contre les théories « diphasiques » d'HANSTEEN-CRANNER et de DEGKWITZ, après avoir démontré que *l'état hydrosoluble des lipides sériques provient simplement de leurs liaisons avec les protides*. KOPACZEWSKI, raisonnant en cytologiste, comprit toute l'importance de cette découverte; il proposa d'étendre la notion des *cénapses hydrosolubles* aux couches limitantes cellulaires (145); ces dernières seraient constituées par un complexe lipidoprotidique « facilement réversible ». « Ces investigations, dit KOPACZEWSKI, méritent d'être approfondies. L'avenir nous démontrera, peut-être, que ce genre d'association entre les lipides et les protides règle la perméabilité de la couche limitante protoplasmique ».

Les faits expérimentaux, acquis récemment par LEPESCHKIN, Mlle CELAN, et nous-même, étayaient la conception dynamique de KOPACZEWSKI et suggèrent une représentation fort simple du complexe colloïdal cellulaire : les *cénapses labiles* du cytoplasme et de ses couches limitantes présenteraient, dans les conditions normales, quelque analogie avec les *cénapses hydrosolubles* du sérum sanguin : elles seraient douées d'une certaine *hydrophilie* permettant le passage de l'eau et des substances hydrosolubles. Un fait, entre autres, nous paraît justifier cette homologation : il existe dans le sérum sanguin une fraction lipidique (d'ailleurs peu importante : 1 à 5 p. cent des

lipides totaux) engagée dans des *cénapses hydrosolubles ultralabiles* facilement dissociables par l'éther (v. page 42).

Les susdites *cénapses* du cytoplasme seraient facilement dissociables par des facteurs externes ou même internes (modifications de l'état fonctionnel), la libération des lipides s'accompagnant d'une régression d'hydrophilie et, corrélativement, d'une variation de perméabilité : perméabilité diminuée pour l'eau et les sels, augmentée pour les substances liposolubles.

Ainsi se trouverait expliqué le fait, établi par HÖBER (7, p. 862), qu'il existe une relation entre la fixation de certains colorants hydrosolubles et l'état fonctionnel des cellules.

En définitive notre conception, basée sur des faits cytologiques, rappelle étrangement le schéma de CLOWES avec ses phases alternantes hydrophile et hydrophobe.

LE BENZÈNE PEUT AUGMENTER LA PERMÉABILITÉ DE MANIÈRE RÉVERSIBLE

Nous avons montré, au cours de nos observations vitales effectuées sur la feuille d'*Elodea canadensis* Rich. (page 82), que l'eau benzinée employée à une dilution convenable peut faciliter transitoirement la pénétration de la soude. Ces expériences, qui reflètent le pouvoir perméabilisant du benzène, peuvent être interprétées ainsi : les lipides péricellulaires seraient dissous et éliminés après avoir été libérés de leurs *cénapses*, cette *délipidation* accentuant l'hydrophilie de la membrane plasmique réduite à sa fraction protidique. Mais dès que la cellule retrouve ses conditions de vie habituelles, la membrane plasmique se reconstituerait (hypothèse conforme à la règle de Gibbs) aux dépens des lipides des couches cellulaires sous-jacentes : en somme nous aurions effectué, au moyen du benzène, une *microdissection chimique* tout à fait comparable aux micropunctures de Chambers, la reconstitution de la membrane plasmique paraissant relever du même processus.

Quoi qu'il en soit, nos observations concordent avec celles de divers auteurs déjà cités (page 77), notamment E. N. HARVEY et LEPESCHKIN, qui ont étudié l'action perméabilisante des narcotiques solvants : l'existence d'un stade régulièrement réversible de perméabilité augmentée [stade qui, selon LEPESCHKIN (152, 155), cor-

respondrait à la période narcotique] n'est pas douteuse bien qu'elle soit, encore à l'heure actuelle, contestée par certains physiologistes (WINTERSTEIN, 7, p. 481).

Parmi les cénapses lipido-protidiques du *cytoplasme*, les plus labiles ont été les seules, jusqu'à présent, à retenir notre attention. Les recherches que nous avons effectuées sur le *chondriome* nous ont conduit dans une voie très différente.

3° Action du benzène sur le chondriome.

EXISTENCE DE CÉNAPSES MITOCHONDRIALES TRÈS STABLES

Il apparaît, à la suite de nos recherches, que le chondriome de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L. est constitué par un système lipido-protidique hétérogène où dominent des cénapses très stables alcool-benzéno-résistantes (pages 50, 73, 112, 113).

La connaissance de leur stabilité peut-elle nous renseigner sur la nature de ces cénapses (qui assurent la colorabilité du chondriome) et nous permettre d'identifier leurs constituants ?

Voyons donc ce que MACHEBŒUF nous apprend sur les diverses cénapses du sérum sanguin (20, 170) : « ce n'est pas une différence de nature chimique qui règle l'extractibilité (par l'alcool) de certains lipides » ; toutes les cénapses (qu'elles soient stables ou instables à l'égard de l'alcool) peuvent contenir des phosphoaminolipides, ou des stérols, ou des graisses neutres.

Tout porte à croire que les cénapses mitochondriales n'échappent pas à cette règle. Or, on a souvent affirmé, sans preuves suffisantes, que les lipides du chondriome sont essentiellement constitués par des phosphoaminolipides (lécithines) ; sont-ce les seuls lipides à être engagés dans les cénapses dont nous avons démontré l'extraordinaire stabilité ? Certaines cénapses stéroliques offrent aussi, en certaines circonstances, une stabilité remarquable.

La présence de cénapses lécithiniques n'exclut donc pas celle de cénapses à base de stérols ou même de graisses neutres.

Dans un mémoire (1) présenté en 1942, nous avons envisagé la présence de stérols au niveau du chondriome ; nous ne faisons d'ail-

(1) Ce mémoire contient d'ailleurs certaines inexactitudes dans l'interprétation des travaux de MACHEBŒUF.

leurs que reprendre une hypothèse déjà ancienne formulée par MAYER, SCHAEFFER et RATHERY (page 126). Or nous n'avions pas encore connaissance, à cette époque, des récents travaux de MENKE et JACOB (203) : ces auteurs, analysant les lipides extraits des chloroplastes de l'Epinard, y ont trouvé une importante quantité de graisses neutres, mélangées de stérols et de lécithines. Nos recherches, basées sur un procédé indirect de cytochimie, nous paraissent compléter utilement celles de MENKE et JACOB.

BEAUVÉRIE (37) a d'autre part montré que la saponine provoque la lipophanérose dans les chromoplastes des pétales de *Ranunculus bulbosus*; or d'après ce que nous savons maintenant des travaux de TAYEAU (page 124), la saponine, substance à noyau stérolique, ne peut « décoller » que des stérols.

Les stérols paraissent donc bien figurer en tant qu'éléments permanents du chondriome.

REMARQUE. — Il nous paraît intéressant de signaler qu'un point de vue, d'ailleurs très différent du nôtre, a été adopté récemment par COUJARD, élève de CHAMPY (63) : d'après cet auteur, la fraction lipidique du chondriome ne jouerait aucun rôle dans les colorations mitochondriales; par contre, la fraction protidique interviendrait par sa richesse en amino-acides phénoliques. COUJARD se base d'une part sur les propriétés microchimiques de certaines fibres nerveuses adrénalinergiques, et d'autre part sur le fait que des diphénols étalés en minces dépôts et traités par les méthodes mitochondriales prennent facilement les laques d'hématoxyline; et il donne l'explication suivante : les diphénols (du type adrénaline) donnent avec les fixateurs aldéhydiques (du type formol) des composés d'addition qui, sous l'action des oxydants (bichromate ou iodate de potassium), se polymérisent et forment des bakélites colorables par l'hématoxyline.

L'hypothèse de COUJARD est intéressante; de prime abord elle ne paraît pas démentie par nos recherches du fait que le chondriome reste colorable malgré une délipidation benzénique prolongée : en ignorant tout du problème des cénapses, on serait tenté d'admettre que tous les lipides mitochondriaux ont été éliminés par le benzène alcoolisé; si donc le chondriome reste colorable, ce serait grâce à la fraction protidique restante.

Cependant : 1° les recherches récentes de TIMM (253) effectuées sur les chloroplastes isolés de la feuille d'Epinard permettent de conclure à l'identité presque absolue des protides mitochondriaux et cytoplasmiques; elles ne confirment donc pas l'hypothèse d'une particularité protidique des chondriosomes. 2° l'hypothèse de COUJARD fait abstraction de nombreux travaux antérieurs d'ordre biochimique (LORRAIN SMITH, THORPE; cf. FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER, 93, p. 41 et p. 42) ou histochimique (REGAUD, POLICARD, FAURÉ-FREMIET, MAYER, SCHAEFFER, CIACCIO) qui tendent à démontrer l'action des fixateurs oxydants sur les lipides et leur transformation en composés sidérophiles. Aussi continuons-nous à admettre le rôle capital

des lipides dans le mécanisme de la fixation mitochondriale. 3° Nous avons démontré que certains complexes lipidoprotidiques du chondriome de Lupin et d'Ail sont très stables et ne sont pas dissociables par une délipidation benzénique, fût-elle de longue durée.

LA STABILITÉ DES CÉNAPSES LIPIDO-PROTIDIQUES PEUT VARIER D'UNE ESPÈCE CELLULAIRE A L'AUTRE

Les expériences de délipidation effectuées sur les cellules formolées de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L. nous ont permis de démontrer l'extraordinaire stabilité physico-chimique de leurs chondriosomes, comparable à celle des chloroplastes de l'Epinard étudiés par BIEDERMANN (page 126); mais ces résultats ne sont pas généralisables : nous avons déjà cité les observations de REGAUD (page 73) sur la labilité des lipides mitochondriaux dans l'épithélium séminal du Rat; d'après les recherches de FAURÉ-FREMIET (page 125) il semble que les lipides mitochondriaux des Insectes et des Gastéropodes sont plus facilement extractibles que ceux des Protozoaires.

La stabilité des cénapses *cytoplasmiques* est également très variable : nous avons montré qu'il existe des conditions optima de délipidation (pages 53, 54, 72) particulières au Lupin et à l'Ail, les différences étant imputables à la moindre résistance du cytoplasme de l'Ail (page 71). BIEDERMANN a déjà observé, à une échelle d'ailleurs beaucoup plus vaste, un type comparable de diversité physico-chimique (45) : d'après cet auteur, les protoplasmes animal et végétal diffèrent par la stabilité de leurs complexes lipido-protidiques, ceux du protoplasme animal étant beaucoup plus labiles.

Ces divers faits suggèrent, en définitive, que les stabilités des cénapses cytoplasmiques d'une part, mitochondriales d'autre part, représentent de véritables *constantes cellulaires*.

CONSÉQUENCES DE L'INEXTRACTIBILITÉ DE CERTAINS LIPIDES CELLULAIRES : CRITIQUE DES TECHNIQUES DE CIACCIO

a) *Critique de la méthode n° 1 de Ciaccio (méthode de caractérisation des phosphatides).*

Le procédé de Ciaccio est basé sur un principe fort simple (59) : la chromisation d'un mélange connu de lipides, effectuée *in vitro*, rend insolubles les phosphatides (les phosphatides seuls) dans les

solvants habituels des graisses. Et cet auteur transpose ce résultat dans le domaine histologique (tableau 20) :

TABLEAU 20

Interprétation, *selon* CIACCIO, des résultats de l'inclusion dans la paraffine (méthode n° 1) :

1° TISSU TÉMOIN (NON CHROMÉ)

Solubilisation des lipides totaux (glycérides, cholestérides, phosphatides).

2° TISSU CHROMÉ

Lipides solubilisés : glycérides et cholestérides.

Lipides *restants* : phosphatides.

Nous passons volontairement sous silence les nombreuses critiques que cette méthode a suscitées (19, p. 205), pour ne parler que des nôtres ; considérons le cas le plus simple, celui du *tissu témoin* : il n'est pas du tout sûr que, dans ce dernier, la totalité des lipides ait été solubilisée par les réactifs de l'inclusion ; ce qui domine dans le problème de l'extractibilité des lipides cellulaires, c'est la stabilité de leurs liaisons avec les protides ; or les recherches de BIEDERMANN (page 126), de LEPESCHKIN (page 127) et les nôtres démontrent la grande stabilité de certaines cénapses.

De ce fait, les résultats *théoriques* de la chromisation ne sont pas conformes aux vues de CIACCIO ; le tableau 21 ci-dessous montre qu'ils sont passablement compliqués :

TABLEAU 21

Résultats théoriques de la fixation par la méthode n° 1 de Ciaccio

2 groupes de cénapses lipido-protidiques existent dans le tissu :

Cénapses A dissociables par les réactifs de l'inclusion.

Cénapses B stables à l'égard de ces réactifs.

1° TISSU TÉMOIN (NON CHROMÉ)

Lipides solubilisés : lipides totaux (glycérides, cholestérides, phosphatides) des cénapses A.

Lipides *restants* : lipides totaux (glycérides, cholestérides, phosphatides) des cénapses B.

2° TISSU CHROMÉ

Lipides solubilisés : glycérides et cholestérides libérés des cénapses A.

Lipides *restants*... $\left\{ \begin{array}{l} \text{lipides totaux (à l'état lié) des cénapses B} \\ \text{phosphatides libres provenant des cénapses A,} \\ \text{rendus insolubles par la chromisation.} \end{array} \right.$

En résumé, les lipides présents dans le tissu après chromisation sont un mélange comprenant les lipides totaux (à l'état lié) des cénapses stables B, et d'autre part les phosphatides (à l'état libre) provenant des cénapses labiles A et insolubilisés par la chromisation.

On pourra nous objecter que, la coloration des coupes étant faite avec le Soudan III, les lipides *liés* des cénapses B ne seront pas colorables, et que seuls se coloreront les phosphatides libres provenant des cénapses A.

Mais que signifie alors une réaction négative? Elle n'a aucun sens : un tissu dont tous les phosphatides seraient du type B donnerait une réaction négative.

Nous pouvons, en définitive, résumer le problème de l'extracitibilité des lipides cellulaires :

Quand on opère une délipidation histologique, on sait parfois ce qu'on enlève mais on ne sait jamais ce qu'on laisse (MEITÈS).

b) Critique de la méthode n° 2 de Ciaccio.

Cette méthode compliquée, qui figure dans de nombreux traités classiques, a été proposée en 1934 pour isoler et caractériser les lipides acétono-insolubles (comprenant surtout les phosphatides). Elle consiste à fixer le tissu par un mélange formol salé-acétone, puis à opérer une délipidation sélective par une série de mélanges d'acétone et de *nitrate de Cadmium*; la délipidation est suivie d'une postchromisation à froid, puis à 37°. Les pièces sont déshydratées par l'acétone et l'éther de pétrole, incluses, et colorées par le Soudan III ou par le procédé de Smith-Dietrich (hématoxyline de Kultschitzky).

Selon CIACCIO, le nitrate de Cadmium est l'agent lipophanéro-gène⁽¹⁾, l'acétone est le solvant sélectif des lipides libérés, et l'on obtiendrait les résultats suivants :

Lipides solubilisés : glycérides et cholestérides.

Lipides *restants* : phosphatides⁽²⁾.

(1) Nous avons déjà exposé (page 128) les idées très particulières de CIACCIO sur la lipophanérose cellulaire.

(2) Les phosphatides sont parfois accompagnés de *galactolipides* dont les caractères de solubilité sont identiques; nous ne parlerons pas de ces derniers pour ne pas compliquer le problème.

Tâchons maintenant de préciser, à la lumière des plus récents travaux, les rôles respectifs du nitrate de Cadmium et de l'acétone.

1^o Rôle du nitrate de Cadmium.

CIACCIO a insisté, en 1926, sur le pouvoir lipophanérogène des sels de métaux lourds (58); or rien ne nous autorise à supposer que ces derniers provoquent une dislocation *complète* des cénapses cellulaires; à priori, le contraire est plus vraisemblable et c'est CIACCIO lui-même qui, dans un mémoire paru en 1936 (60), c'est-à-dire deux ans après la publication de sa méthode, nous en apporte la preuve : on sait que les techniques golgiennes reposent sur une fixation préalable par le formol additionné d'un sel de métal lourd (nitrate d'Urane, nitrate de Cadmium, etc.) qui provoque un démasquage des lipides (CIACCIO, PARAT); CIACCIO, s'inspirant des travaux de MACHEBŒUF, *renforce* l'action du métal lourd par l'addition d'alcool : il est intéressant, dit-il, de noter que l'addition d'alcool (dans la proportion d'environ 30 p. cent) au mélange de formol et de nitrate d'Urane ou de Cadmium *rend plus constants* les résultats de lipophanérose au niveau de l'ergoplasme, et qu'elle coïncide avec une facilité plus grande de mise en évidence de l'appareil de Golgi par les méthodes argentiques.

CIACCIO démontre donc, en constatant l'action additive de l'alcool, que le nitrate de Cadmium ne détruit pas *toutes* les cénapses.

2^o Rôle de l'acétone.

L'emploi de cette substance était primitivement motivé par ses qualités de solvant sélectif respectant les phosphatides à l'exclusion des autres lipides.

Il faut ajouter à ces propriétés de l'acétone son pouvoir *lipophanérogène* : DELAGE a publié, en 1935, un important mémoire sur l'extractibilité des lipides sanguins par l'acétone (72); l'acétone, tout comme l'alcool éthylique, démasque 50 p. cent environ des lipides totaux du sérum. CIACCIO confirme en 1936 (deux ans après la publication de sa méthode) le pouvoir lipophanérogène de l'acétone, par des expériences effectuées *in vitro* sur les foies de Lapin et de Rat.

En définitive, l'acétone et le nitrate de Cadmium additionnent ou superposent leur action lipophanérogène, mais il n'est pas du tout certain que toutes les cénapses lipido-protidiques respectées par l'un soient détruites par l'autre; on doit prévoir que certaines

cénapses cellulaires résistent à leur action conjuguée, et envisager le cas général : celui de l'existence possible de *cénapses acétono-cadmio-résistantes* d'une part, *acétono-cadmio-labiles* d'autre part. Le tableau 22 schématise les résultats théoriques de la délipidation acétono-cadmique :

TABLEAU 22

Résultats théoriques de la délipidation acétono-cadmique effectuée selon la méthode n° 2 de Ciaccio

2 groupes de *cénapses* existent dans le tissu :

Cénapses A (*acétono-cadmio-labiles*).

Cénapses B (*acétono-cadmio-résistantes*).

1° **LIPIDES SOLUBILISÉS PAR L'ACÉTONE**

Glycérides et cholestérides libérés des *cénapses A*.

2° **LIPIDES RESTANTS**

Lipides totaux (*à l'état lié*) des *cénapses résistantes B*

+

Phosphatides (libres) provenant des *cénapses A*.

En résumé, et contrairement aux affirmations de CIACCIO, les phosphatides ne sont pas les seuls lipides qui ont résisté à l'extraction acétono-cadmique : à côté de ces phosphatides (qui se trouvent à l'état libre) subsistent toutes les *cénapses acétono-cadmio-résistantes* ; or ces dernières peuvent contenir des phosphatides, des stérides, des glycérides.

Le but cherché par CIACCIO n'est donc pas atteint puisque cet auteur se proposait 1° de démasquer la totalité des lipides, 2° d'isoler les phosphatides en éliminant les autres lipides.

STRUCTURE GRANULAIRE DU CHONDRIOCONTE

a) *Faits antérieurs.*

La granulation des chondriocotes filamenteux est un phénomène d'altération bien connu aujourd'hui ; l'extrême labilité des filaments explique l'erreur des premiers cytologistes qui, utilisant des fixateurs imparfaits, considérèrent les chaînes de grains comme une forme typique du chondriome (BENDA).

Les chloroplastes, qui ne sont qu'une variété de chondriosomes, ont fait l'objet d'interprétations analogues : leur structure granu-

leuse décrite par MAYER et SCHIMPER (1885) a été contestée par GUILLIERMOND, SHARP, KÜSTER.

L'observation vitale, grâce aux perfectionnements qui lui furent apportés par GUILLIERMOND (cellule végétale) et par Giuseppe LEVI (cellule animale), donna raison aux partisans de l'homogénéité des chondriocontes et des plastes; ces derniers considérèrent les granulations comme des artéfacts, et le problème paraissait résolu. Une place à part était cependant réservée à certaines Algues (Spirogyres) dont les chloroplastes ont une structure hétérogène et très complexe; malgré les objections de PENSA (228) ils furent interprétés comme des chondriosomes. Signalons aussi une autre exception à la règle chez les Sélaginelles : EMBERGER (84) y a décrit d'énormes chondriocontes en forme de filaments noueux (chaînes chlorophylliennes) dont chaque nœud correspond à un grain chlorophyllien relié aux autres par un fin tractus; « ces chaînes, dit EMBERGER (84, p. 344), peuvent se former de deux façons : elles peuvent être le résultat de divisions incomplètes des plastes qui restent toujours unis, ou bien naître aux dépens de longs filaments qui deviennent noduleux par l'accumulation irrégulière de la chlorophylle »; quoi qu'il en soit, le chapelet chlorophyllien qu'EMBERGER considère « comme un seul chloroplaste » (loc. cit.) a une structure hétérogène incontestable.

Cette description, assez ancienne, est d'autant plus intéressante que des travaux récents ont remis en question le problème de l'hétérogénéité structurale des plastes non plus seulement chez les Cryptogames, mais aussi chez les Phanérogames : en 1933, MAIGE (177) conteste l'homogénéité et l'uniformité physico-chimique des plastes; en effet, dit-il, l'examen des processus décrits par GUILLIERMOND et relatifs à l'apparition de l'amidon dans les plastes ayant la forme filamenteuse du chondrioconte, suggère que ces organites n'ont pas une constitution homogène dans toute leur étendue : le fait que l'amidon apparaît en un ou deux points de la longueur du plaste conduit en effet à supposer « qu'en ces points le stroma plastidal a des propriétés physico-chimiques différentes de celles des autres parties » (loc. cit.).

D'autres publications récentes font ressortir la structure granuleuse des chloroplastes, confirmant ainsi les premières observations de MAYER et SCHIMPER (FREY-WYSSLING, 99); le chloroplaste est

constitué par un stroma où sont encastrées de petites granulations imprégnées de chlorophylle : cette structure est parfaitement visible sur le vivant dans les feuilles de Glaïeul (PEKAREK, 227) et dans les jeunes feuilles de Tabac (WEIER, 271, 272). Dans une monographie publiée en 1938, BEAUVERIE⁽¹⁾ décrit l'état granulaire des chloroplastes dans plus de 70 espèces de Cryptogames et de Phanérogames.

En 1941, MENKE (201) étudie les chloroplastes d'Épinard et de Tabac avec le microscope électronique; sa technique, d'ailleurs sujette à de graves objections, lui permet de déceler la présence de granules d'un diamètre moyen de 200 millimicrons.

b) *Résultats de nos recherches personnelles effectuées sur le Lupin et l'Ail.*

Dans la partie descriptive de notre travail nous avons démontré que le chondrioconte normal a une structure granuleuse *masquée*; ce caractère ressort de l'examen de certaines coupes ayant subi la délipidation benzénique postformolée (pages 50, 51, 70). Le chondrioconte offre normalement une différenciation linéaire, exclusive de toute altération préalable; en d'autres termes la structure chondriomite préexiste dans le chondrioconte normal.

On comprend dès lors que le chondrioconte soit prédisposé à la fragmentation, phénomène d'altération provoqué sur le vivant par de nombreuses substances et en particulier les narcotiques; cette fragmentation est réelle en ce sens qu'on ne peut plus observer la forme filamenteuse, quelle que soit la durée de la chromisation.

Mais que la forme granuleuse soit *masquée* dans le chondrioconte normal, ou *réelle* dans le chondrioconte altéré, il s'agit toujours des mêmes grains sidérophiles; il nous paraît intéressant de signaler que ces grains ont un diamètre approximatif de 100 millimicrons; leurs dimensions ne sont donc pas très éloignées de celles des grains (200 millimicrons) observés par MENKE dans certains chloroplastes, au moyen du microscope électronique.

Les résultats de nos expériences nous ont donc convaincu que la structure granuleuse n'est pas l'apanage exclusif des chloroplastes,

(1) Nous n'avions pas connaissance des travaux de BEAUVERIE à l'époque, assez récente, où nous avons rédigé un mémoire destiné au *Bulletin d'Histologie appliquée*; nous nous empressons de réparer cette omission.

et nous permettent d'étendre la conception de l'hétérogénéité structurale à la *totalité* des chondriosomes. En somme tout chondrioconte, qu'il soit actif ou inactif dans la photosynthèse, nous paraît être l'équivalent morphologique (à une échelle réduite) d'un des types de chapelet qu'EMBERGER a observé chez les Sélaginelles, et qu'il a décrit sous le nom de chaîne chlorophyllienne; le chondrioconte chlorophyllien des Sélaginelles fait la liaison entre le chondrioconte banal des Végétaux supérieurs, à structure granuleuse masquée, et le chloroplaste compliqué des Algues telles que la Spirogyre; il nous a paru intéressant de souligner cette homologie dans la série végétale.

c) *Considérations théoriques.*

La différenciation morphologique du chondrioconte rappelle celle du *chromosome* dont la structure discontinue a été récemment confirmée par la technique historadiographique (TURCHINI, 254, 255) et par la micro-incinération (spodogrammes de BARIGOZZI, 34).

Or de nombreux généticiens admettent aujourd'hui que le chromosome possède la structure cristalline des substances protidiques filamenteuses du type fibroïne ou kératine (KOLTZOFF, 17). Les formes filamenteuses du chondriome nous paraissent susceptibles du même rapprochement; le chondrioconte, complexe lipido-protidique donnant toutes les réactions des protides (GIROUD, MILOVIDOV), a une structure cristalline: GIROUD (124) a montré sa biréfringence dans les cellules intestinales de l'*Ascaris canis*, cette anisotropie optique traduisant un enchaînement régulier des molécules constitutives; plus récemment MONNÉ (209) a observé la biréfringence des chondriosomes dans les cellules sexuelles mâles des Pulmonés. L'anisotropie des chondriosomes est attribuée à une disposition lamellaire des molécules: cette structure a été particulièrement bien mise en évidence dans les chloroplastes par l'examen de leur spectre de fluorescence (FREY-WYSSLING, 99) et aussi par leur biréfringence particulière après imprégnation aux sels d'or; dans ce dernier cas, on observe un dichroïsme du fait que les particules d'or sont adsorbées sur le chloroplaste dans un ordre régulier et périodique (MENKE et KÜSTER, 202). Citons enfin les travaux de SAVELLI sur la biréfringence de certains chromoplastes (240).

En définitive, par sa forme discontinue et sa structure cristalline, le chondrioconte offre une frappante analogie avec le chromosome

(sans préjuger, bien entendu, des différences d'ordre histo-chimique révélées par le comportement du chondriome et du noyau à l'égard de la réaction de Feulgen) : nous admettons, à côté du « chromosome-molécule » de KOLTZOFF, le « chondrioconte-molécule »; cette notion confère à ce dernier, et par extension à l'ensemble des chondriosomes, des caractères de spécificité analogues à ceux du chromosome, et il est possible qu'il n'y ait pas, dans une même cellule, deux mitochondries ou deux chondriocontes identiques.

Cette variété laisse prévoir, sous l'apparence d'une unité morphologique, des caractères différentiels permettant une classification dichotomique; or c'est ce que plusieurs faits d'expérience nous démontrent :

GUILLIERMOND, EMBERGER et MANGENOT ont montré la dualité physiologique des chondriosomes; il y a, disent-ils, chez les Végétaux, deux catégories de chondriosomes conservant leur individualité au cours de l'évolution des cellules : l'une de ces catégories correspondrait aux plastes et serait pourvue d'une puissante activité élaboratrice (synthèse de l'amidon), l'autre serait inactive dans la photosynthèse.

Nos propres observations vitales effectuées sur le chondriome d'*Allium Cepa* L. font ressortir des caractères différentiels d'un autre ordre (page 84) : si l'on perfuse des écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L. au moyen d'une solution de Ringer saturée de benzène, la plupart des grains mitochondriaux ne montrent aucune modification; seuls quelques-uns d'entre eux se vésiculisent; ce phénomène est propre à l'action du benzène et n'a rien de commun avec la cavulation hypotonique, puisque nous avons opéré en milieu de Ringer; certaines mitochondries ont donc pu témoigner leur individualité physico-chimique qui, sans le traitement benziné, n'eût pas été décelée.

Une récente observation de P. DANGEARD que nous avons déjà citée (page 84) confirme nettement l'individualité chondriosomiale.

Tous ces faits expérimentaux témoignent de la spécificité micellaire du chondriome et nous laissent entrevoir le rôle héréditaire des éléments figurés du cytoplasme; depuis quelques années les faits s'accumulent dans le domaine de l'hérédité cytoplasmique envisagée par MEVES.

B. — ACTION MITOCLASIQUE DU BENZÈNE

Nous avons démontré les propriétés mitoclasiques du benzène (*pages* 29, 58, 61, 67); le plus simple des hydrocarbures cycliques doit donc être ajouté à la liste des nombreuses substances qui exercent des effets comparables à ceux de la colchicine et du chloral.

En parcourant la bibliographie de ces dix dernières années (où nous retrouvons fréquemment les noms de P. et N. GAVAUDAN, DURAND, SIMONET et GUINOCHE, LEFÈVRE, MANGENOT, GOSSELIN, GARRIGUES), nous avons compté 75 agents de déviation stathmocinétique appartenant aux groupes chimiques les plus divers : hydrocarbures, alcaloïdes, arsenicaux, etc.

L'importante question des substances mitoclasiques a d'ailleurs fait l'objet de deux mises au point remarquables parues en 1941, effectuées indépendamment par MANGENOT (181) et par SENTEIN (26); en tenant compte des plus récents travaux (parus jusqu'en fin Décembre 1943) nous avons établi une classification sommaire des substances actives (tableau 23, *page* 148) :

Nous ne reviendrons pas sur les modalités de l'inhibition fusoriale, que nous eûmes déjà l'occasion de résumer (*page* 28); bornons-nous à souligner que l'efficacité mitoclasique des diverses substances est extrêmement variable, rarement égale à celle de la colchicine; citons, parmi les plus actives, l'acénaphène (KOSTOFF, SCHMUCK, NAVASHIN, GAVAUDAN et DURAND) et le tétraméthylbenzène récemment étudié par GAVAUDAN (109).

Les stathmocinèses induites par le benzène sont frustes et non itératives, les propriétés mitoclasiques de cette substance sont, certes, moins accusées que celles de la plupart de ses dérivés et homologues; nous n'en avons pas moins démontré un fait qui nous paraît important : l'alourdissement de la molécule benzénique ou la multiplication des cycles ne font que *renforcer* (et non pas créer) une propriété du noyau fondamental.

QUEL EST LE POINT DE DÉPART DE L'ACTIVITÉ MITOCLASIQUE?

Après les travaux de DUSTIN, il ne semblait pas douteux que les stathmocinèses dussent être attribuées à une action directe sur l'appareil fusorial.

TABLEAU 23

Classification sommaire des substances mitoclasiques

HYDROCARBURES CYCLIQUES ET LEURS DÉRIVÉS

<i>Groupe du benzène</i>	{	<i>Benzène</i> (MEITÈS, 195)
		Homologues du benzène (sauf l'hexaméthylbenzène)
		Dérivés halogénés, nitrés
		Rares phénols (thymol)
		Divers éthers et esters
		Diphényle Diphénylméthane
<i>Groupe du naphtalène</i> . . .	{	Naphtalène
		Dérivés halogénés, nitrés
		Divers éthers
<i>Groupe de l'acénaphène</i> .	{	Acénaphène
		Acénaphtylène

ALCALOÏDES

Colchicine, Caféine, Théophylline, Théobromine, Nicotine, etc.

ARSENICAUX

Arséniate de Na, Cacodylate de Na, Arrhénal.

COMPOSÉS ORGANO-MÉTALLIQUES

Phosphate de mercure-éthyle

NARCOTIQUES DE LA SÉRIE GRASSE

Chloral, Chloroforme, Ether.

NEBEL et RUTILE (215), P. et N. GAVAUDAN (105), DELCOURT (cité d'après MANGENOT, 181, p. 214), GARRIGUES (101, p. 279) ont d'ailleurs montré que la colchicine n'altère ni le cytoplasme ni le chondriome. L'exemple de la colchicine impressionna longtemps les cytologistes : la plupart de ces derniers n'appliquèrent, à l'étude des autres substances, que des méthodes caryologiques ; signalons toutefois quelques recherches fragmentaires d'ordre mitochondrial effectuées par GARRIGUES (action du chloral, 101, p. 285), et par Mlle VILLARS (action du thymol, 262).

On voit pourtant, à partir de 1939, apparaître une nouvelle tendance : « l'hétérogénéité de constitution des substances actives, dit J. LEFÈVRE (148), paraît de plus en plus conduire à admettre un

mécanisme complexe d'action indirecte ». « La réaction univoque de la cellule à des agents très divers, dit GAVAUDAN (110), laisse entrevoir essentiellement à l'origine de toutes ces actions pharmacodynamiques la perturbation *cytoplasmique* ».

On sait en effet depuis longtemps qu'il existe une relation entre la *viscosité* du cytoplasme et les phénomènes mitotiques, la plupart des auteurs s'accordant à reconnaître que la viscosité diminue à la métaphase (HEILBRUNN, KOSTOFF) (146).

a) *Modifications expérimentales de la viscosité cytoplasmique.*

MANGENOT (181) cite une ancienne observation de KOSTOFF (147) : ce dernier, étudiant le tissu calleux des bourrelets de greffe, avait signalé que l'augmentation de viscosité consécutive à la réaction réciproque du greffon et du porte-greffe coïncide avec des troubles mitotiques (altération fusoriale, polyploïdie).

L'augmentation de viscosité corrélative d'une *déshydratation cellulaire* conduit à des résultats analogues : en 1938 MILOVIDOV (207) observe des troubles de la cytodièrese consécutifs au flétrissement et à la dessiccation des méristèmes radiculaires de *Vicia Faba*. Vers la même époque GILES (123) parvient à imiter les effets de la colchicine en déshydratant les bourgeons floraux d'un *Tradescantia*. De son côté GARRIGUES (102) observe des anomalies « du type paradichlorobenzénique » en effectuant des germinations de Pois sur milieu huileux; d'après cet auteur, c'est l'augmentation de la viscosité cytoplasmique (les cellules étant privées de toute ressource aqueuse) qui entraîne les troubles fonctionnels du fuseau.

Dans une intéressante monographie parue en 1941, GAVAUDAN (110) tente d'établir le rôle du cytoplasme dans la formation du fuseau et du phragmoplaste (fuseau de cytodièrese).

b) *Résultats de nos recherches personnelles.*

L'eau benzinée saturée a une action plasmolysante (pages 22, 55, 74) : la plasmolyse est une forme de déshydratation.

Nous avons d'autre part montré (pages 59 et 60), en opérant sur des méristèmes d'*Allium sativum* L. adaptés au milieu hypotonique, que l'eau benzinée *dédoublée* déclenche un processus de vacuolisation (planche XIII, fig. a) indépendant des facteurs osmotiques et

imputable au benzène seul⁽¹⁾; les figures de vacuolisation « benzénique » nous ont paru identifiables aux figures classiques de déshydratation décrites par MATRUCHOT et MOLLIARD dans les cellules soumises au gel (page 60).

En somme la plasmolyse « benzénique », la vacuolisation « benzénique » révèlent un processus de synérèse, véritable exsudation du cytoplasme.

Il n'est pas douteux que cette exsudation modifie les propriétés physiques du coacervat protoplasmique (en particulier la viscosité); on conçoit qu'elle puisse entraîner des perturbations mitotiques tout à fait comparables à celles qui ont été décrites par MILOVIDOV, GILES et GARRIGUES.

Ces résultats, que nous avons déjà rapportés dans un mémoire (195), ont été interprétés favorablement par GAVAUDAN (116).

Signalons que WADA a observé des faits du même ordre en étudiant l'action du chloroforme sur les cellules des poils staminaux d'un *Tradescantia* (263): vacuolisation du cytoplasme, perturbation de la mitose.

En résumé nos observations cytologiques paraissent confirmer l'hypothèse classique reliant les troubles mitotiques et l'augmentation de viscosité cytoplasmique.

c) *Confirmation du rôle de l'eau dans les phénomènes mitotiques : travaux de Schmidt et de Dervichian.*

Il n'est plus permis de passer sous silence les importants travaux qui se rapportent à la biréfringence du fuseau de caryocinèse; cette question a fait l'objet d'une récente revue d'ensemble de SCHMIDT (242) accompagnée de magnifiques photographies montrant la biréfringence fusoriale dans les œufs d'Oursins. Cet auteur a démontré la structure fibrillaire de l'appareil fusorial dont le substratum protidique est tout à fait comparable à celui des myofibrilles. Au stade de l'anaphase, le transport des chromatides aux pôles résulte d'un raccourcissement des fibres qui perdent alors leur biréfringence; SCHMIDT assimile ce processus à celui de la contraction musculaire.

PFEIFFER (229) vient effectivement de montrer que la biréfringence du muscle disparaît au cours de sa contraction isotonique.

(1) La vacuolisation « benzénique » est un processus distinct, bien que morphologiquement comparable à la vacuolisation d'origine hypotonique.

Ainsi se trouve confirmée la vieille théorie cinétique dite « des filaments de traction » (Zugfaser-, Muskelfadentheorie der Chromosomenbewegung).

Quelle est la cause de la biréfringence fusoriale?

FAURÉ-FREMIET et BAUDOUY (94) ont souligné l'importance de la déshydratation dans la biréfringence d'un protide : l'ovokératine. D'autre part un physico-chimiste (DERVICHIAN, 76) a récemment entrepris l'étude des cristaux liquides de protides; l'analyse des solutions de savons avait précédemment révélé l'existence « de plusieurs phases se distinguant simplement les unes des autres par leur contenu en eau. L'une de ces phases, la plus diluée, est optiquement isotrope; les trois autres sont biréfringentes » (loc. cit. 76, p. 338). DERVICHIAN envisage l'existence d'un équilibre analogue dans les solutions de protides; « du point de vue biologique, dit-il, cet équilibre entre phase isotrope et anisotrope jette quelque lumière sur certains phénomènes observés dans la cellule vivante, dont le contenu est optiquement vide *et où apparaissent, au moment de la mitose, des parties biréfringentes* : ce que nous venons de dire nous montre en effet qu'il suffit d'une très faible variation locale de la concentration en électrolytes, ou peut-être d'autres substances, pour que la solution colloïdale isotrope donne naissance à des parties présentant des propriétés physiques tout à fait différentes, *et ceci par le départ d'à peine quelques p. cent d'eau.* » (loc. cit.).

Or G. LEVI avait déjà constaté, en 1925 (162, p. 12 et p. 13), que les phénomènes mitotiques sont accompagnés de variations de l'imbibition aqueuse des cellules.

Les travaux de DERVICHIAN nous permettent de concevoir l'extrême sensibilité à l'eau de l'appareil fusorial, et confirment l'importance des processus de déshydratation dans les troubles mitotiques obtenus expérimentalement par MILOVIDOV, GILES, GARRIGUES, et nous-même.

d) Conclusion.

L'étude des phénomènes mitotiques, normaux et anormaux, révèle le rôle primordial de l'eau, rôle qui nous était déjà apparu avec évidence au cours des variations structurales du chondriome et du vacuome.

EXISTE-T-IL UNE RELATION ENTRE LA MITO-INHIBITION ET LA NARCOSE?

L'action déshydratante des narcotiques solvants, découverte par GUIGNARD en 1909, est aujourd'hui classique : GAVRILESCU (120) a montré que l'éther et le chloroforme diminuent le diamètre de la fibre nerveuse par un processus de synérèse; CORNET (62), PICARD (24) ont décrit l'action plasmolysante de l'éther et du chloroforme chez les végétaux.

La déshydratation de la cellule est à la base de plusieurs théories de la narcose (théorie de la déshydratation de R. DUBOIS, 7, p. 472; théorie du dégonflement de KOCHMANN, 7, p. 474).

Les recherches de HEILBRONN, effectuées sur le plasmode des Myxomycètes (132) sont, d'un autre point de vue, fort intéressantes : cet auteur a montré que de faibles concentrations d'éther et de chloroforme diminuent la viscosité du protoplasme, des concentrations plus fortes provoquent une *augmentation de viscosité* (d'abord réversible, puis irréversible). D'après LEPESCHKIN (155) la période d'excitation prénarcotique correspondrait au stade initial de viscosité diminuée, la période de narcose proprement dite correspondant à un stade réversible de *viscosité augmentée*.

Les modifications de la viscosité, corrélatives de l'action déshydratante des narcotiques, laissent présumer des *perturbations mitotiques* : WADA (263), GAVAUDAN (115, 116) ont effectivement constaté que l'éther et le chloroforme ont des propriétés mitoclasiques. Etudiant d'autre part l'action narcotique de divers hydrocarbures et de leurs dérivés halogénés (110, p. 25), GAVAUDAN a effectué un rapprochement entre l'inhibition de la caryocinèse végétale et les phénomènes de narcose. L'hypothèse de GAVAUDAN est à retenir; du point de vue strictement cytologique, elle n'est pas contredite par les résultats de nos recherches, et il nous paraît intéressant de rappeler ici les modifications *rigoureusement réversibles* provoquées chez *Allium sativum* L. par l'eau benzinée diluée au quart (pages 67 et 68) : 1° *granulisation primaire du chondriome* (processus commun à tous les narcotiques solvants, voir page 120); 2° *mérostathmocinèses frustes*.

§ III. — LA CELLULE VÉGÉTALE FIXÉE PAR LE FORMOL CONSERVE CERTAINES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES

Il nous paraît intéressant d'interpréter les deux groupes de faits suivants :

1° Action perméabilisante de l'eau.

Nous avons montré (*pages 15 et 17*) que tout séjour dans l'eau *pré-* ou *postformolé*, imposé aux racines de *Lupinus albus* L. développées à l'air, a pour effet d'abrégier la durée de la postchromisation du chondriome; en d'autres termes, il y a « perméabilisation » des cellules à l'égard du bichromate de potassium.

Pour expliquer l'augmentation de perméabilité de la cellule *vivante* séjournant dans l'eau, on serait tenté d'invoquer certaines modifications du métabolisme : on sait, depuis les travaux de GÖBEL, de Mc COLLUM et de ROSE, que le milieu aqueux modifie profondément le métabolisme cellulaire; il y a accumulation des protides et des lipides aux dépens des glucides; notons que l'augmentation du taux des lipides devrait diminuer la perméabilité vis-à-vis de l'ion bichromate hydrophile, et non pas l'augmenter. Mais il y a une objection plus grave : l'eau agit dans le même sens avant et après la fixation formolée; or dans le deuxième cas, son action perméabilisante ne saurait s'expliquer par une orientation particulière du métabolisme; l'explication de l'action de l'eau doit donc être cherchée ailleurs : il est probable que l'eau exerce une action d'imbibition et de gonflement sur les colloïdes des couches cellulaires limitantes, facilitant la pénétration ultérieure des ions hydrophiles (on a pu montrer en effet, par l'étude des membranes de précipitation, que l'augmentation du gonflement s'accompagne d'une augmentation de perméabilité). On peut penser que le même processus se déroule lorsque le traitement aqueux fait suite à la fixation formolée, au lieu de la précéder.

2° Action perméabilisante du benzène.

a) *Observations vitales effectuées sur la feuille d'Elodea canadensis* Rich. (*pages 80, 81, 82*).

Le benzène utilisé à une dose non toxique (quart de saturation) perméabilise les cellules à l'égard de la soude.

b) *Technique mitochondriale.*

Le benzène utilisé à une dose non toxique (quart de saturation, page 36) ou faiblement toxique (demi-saturation, page 60) peut accélérer la chromisation *postformolée* du chondriome.

La cellule *formolée* a, en l'occurrence, fonctionné dans le même sens que la cellule *vivante*. Cette conclusion assez curieuse peut être interprétée d'une manière simple : dans le complexe lipido-protidique du protoplasme, c'est la *fraction protidique* qui est le point d'attaque du formol (blocage des fonctions aminées, dénaturation; cf. pages 43 et 44); on a peine à concevoir, par contre, que le formol puisse avoir une affinité quelconque pour la fraction lipidique, et il est vraisemblable que cette dernière conserve, malgré la fixation formolée, une certaine indépendance physico-chimique. Or on admet aujourd'hui que la perméabilité cellulaire est essentiellement réglée par la fraction *lipidique* du complexe protoplasmique; l'action perméabilisante du benzène, *pré-* ou *postformolée*, peut être raisonnablement attribuée à la dissolution de certains lipides (page 135).

En définitive, il nous paraît possible, ainsi que nous l'avons déjà soutenu dans de précédents mémoires (194, 195), d'appliquer à des cellules *fixées par le formol* certaines données de perméabilité relatives aux cellules *vivantes* : le formol ne se bornerait donc pas à conserver la morphologie des cellules vivantes, il en conserverait aussi certaines propriétés physiologiques; ce fait semble indiquer que la perméabilité cellulaire relève de *facteurs physico-chimiques simples*.

Nous ne sommes pas le premier à avoir constaté un certain parallélisme entre la perméabilité de la cellule morte et celle de la cellule vivante : WINTERSTEIN (273) (7, p. 407 et p. 412) et ARANI (7, p. 408), étudiant l'action des narcotiques sur le muscle vivant d'une part, sur le muscle coagulé par la chaleur d'autre part, observent dans les deux cas des modifications de perméabilité réversibles et de même sens; et GELLHORN conclut de ces recherches : « nous ne sommes pas obligés de considérer l'action narcotique comme une inhibition d'un processus cellulaire *vital* » (loc. cit. 7, p. 412). NIINA (217) a obtenu, avec la peau de Grenouille vivante ou morte, des résultats comparables à ceux de WINTERSTEIN.

§ IV. — SENSIBILITÉ PARTICULIÈRE
DE LA ZONE DE DIFFÉRENCIATION DANS LES EXTRÉMITÉS
RADICULAIRES
DE LUPINUS ALBUS L. ET D'ALLIUM SATIVUM L.

La région subterminale de la racine offre, à tous points de vue, une indépendance remarquable : nous avons effectué de nombreuses observations qui tendent à confirmer l'hypersensibilité et la moindre résistance de cette zone cellulaire de transition.

1^o Les faits observés.

FAITS MORPHOLOGIQUES

Action de l'eau sur la radicule de Lupinus albus L.

Le milieu hypotonique provoque une hypertrophie transitoire de la zone subterminale (page 89).

Action du benzène sur la radicule de Lupinus albus L.

Les modifications constatées diffèrent suivant la concentration de benzène; mais qu'il s'agisse de nécrose (eau benzinée saturée, page 92), d'amincissement ou de tuméfaction (eau benzinée saturée diluée au demi ou au quart; fig. 12 *b* et *c* de la page 94, et fig. *a* de la planche XXIII), la zone sous-méristématique située à quelques millimètres de l'apex est toujours la première atteinte; si le benzène a agi au seuil de la dose toxique (demi-saturation), le méristème replacé dans les conditions normales peut reprendre le cours de son développement, tandis que la zone sous-méristématique primitivement altérée évolue vers la nécrose (planche XXIII, cas n^o 2, fig. *b*).

Nous avons déjà fait remarquer (page 93) que la tuméfaction subterminale provoquée par des doses faibles de benzène rappelle l'action de maintes substances toxiques ⁽¹⁾; PICARD a d'autre part signalé l'amincissement de la zone subterminale après action de l'éther et du chloroforme (24, p. 51).

⁽¹⁾ La tuméfaction subterminale des racines a fait l'objet d'intéressantes mises au point de P. et N. GAVAUDAN (107), et de MANGENOT (181).

L'action lipophanérogène de l'eau benzinée saturée s'exerce préférentiellement dans la région *subterminale* des racines d'Ail (planche XI, fig. d) et de Lupin (planche III, fig. c).

L'action de l'eau benzinée dédoublée (dose toxique limite) permet souvent le retour à la normale des cellules méristématiques (caractérisé par la réapparition des chondriocentes), alors que la zone sous-méristématique reste altérée (racine de Lupin, page 34).

Mlle ROLLEN (25, p. 58) a d'autre part signalé que la zone subterminale de la racine d'Ail est particulièrement sensible à l'action pycnotique de l'octanol.

2° Interprétation classique des processus de tuméfaction subterminale : rôle des auxines.

On admet aujourd'hui que tous les sommets végétatifs, et en particulier les méristèmes radiculaires (NAGAO, cité d'après GAUTHERET, 103; VAN OVERBEEK, 224) sont producteurs d'auxines dont le courant est polarisé longitudinalement⁽¹⁾; les auxines délivrées par le méristème radiculaire assureraient l'allongement (c'est-à-dire l'étirement) des cellules en voie de différenciation *de la zone subterminale*.

Les tuméfactions subterminales (simples processus d'*élargissement* cellulaire), provoquées par diverses substances toxiques, s'expliquent selon BORGSTRÖM et Miss BRAIN (48) par un bouleversement du transport normal des auxines dont le courant est détourné dans le sens transversal; de ce fait, l'étirement des cellules s'effectue transversalement et non plus longitudinalement : les intumescences subterminales correspondent, en somme, à une déviation de l'accroissement cellulaire. MANGENOT interprète les faits de manière analogue (181, p. 240) : « on peut admettre, dit-il, que les cellules de la zone

(1) Il nous paraît utile de rappeler que la racine est le siège d'un double courant d'auxines, une partie de ces dernières étant délivrée par le méristème radiculaire, l'autre, par les parties vertes du végétal : on s'explique ainsi que la polarité des auxines radiculaires ait donné lieu à des conclusions discordantes; mais la plupart des auteurs admettent aujourd'hui que, *dans le méristème et la région subterminale de la racine*, le courant d'auxine est polarisé de bas en haut (direction racine-feuilles (248)).

d'allongement présentent une anisotropie structurale, peut-être en rapport avec le courant d'auxine circulant, à partir du sommet, en direction longitudinale »; de nombreuses substances toxiques seraient capables de modifier cette anisotropie, détruire la polarité de l'accroissement normal, et provoquer des tuméfactions.

Sans contester que des troubles auxiniques soient à l'origine des tuméfactions subterminales, on peut faire quelques objections aux théories que nous venons d'énoncer : 1° les travaux de FABER, WENT, CHOLODNY, HAWKER, BOYSEN-JENSEN (88) semblent établir que l'étirement des cellules sous-méristématiques est, dans les conditions normales, non pas favorisé mais *inhibé* par l'auxine provenant du méristème. 2° nous sommes contraint, pour notre part, de nous élever contre l'opinion courante selon laquelle la région subterminale des racines est exclusivement, dans les conditions normales, une zone d'étirement *longitudinal* des cellules; cette règle n'est pas valable dans tous les cas: dans la racine de *Lupin*, elle ne se vérifie que pour les cellules du plérome; par contre, dans le périblème sous-méristématique, l'accroissement normal des cellules est radial (c'est-à-dire transversal), parfois même isodiamétrique. Voici les résultats de deux mensurations, effectuées dans une même file de cellules appartenant au périblème d'une extrémité radiculaire de *Lupin* fixée par la méthode de Regaud (les cellules ont été comptées à partir des « initiales ») :

	Longueur	Largeur
10 ^e cellule	13 μ	11 μ
85 ^e cellule	10 μ	17 μ
(l'accroissement est radial)		

Dans la zone subterminale de la racine d'*Ail*, les modalités de l'accroissement cellulaire sont fort variables; dans certaines files de cellules on constate l'étirement longitudinal classique, dans d'autres files l'accroissement est isodiamétrique.

3° Interprétation personnelle de l'hypersensibilité de la zone subterminale.

A toutes les particularités de la zone de différenciation sous-méristématique s'ajoute une propriété essentielle : *c'est avant tout et*

par définition une zone de blocage mitotique : on peut donc envisager l'existence d'un mécanisme humoral et hormonal de caractère toxique.

De nombreuses substances toxiques (181) ont la propriété d'inhiber la prolifération cellulaire : les substances mitoclasiques, dont le type est la colchicine, arrêtent les cinèses à un stade défini (prémétaphase, métaphase), en s'opposant à la répartition régulière des chromatides ; mais la plupart des toxiques agissent plus simplement en inhibant l'entrée en prophase, ce qui entraîne la disparition progressive de toutes les figures mitotiques : le mécanisme hormonal de la différenciation cellulaire appartient à ce dernier type. On peut se demander quelles sont les hormones responsables ; mais il nous faut, auparavant, ouvrir une parenthèse.

a) Polyvalence des auxines.

CASTAN (50, p. 193) a fort bien défini la croissance d'un végétal : elle est caractérisée par 1° la multiplication cellulaire, 2° la différenciation cellulaire, 3° l'élongation cellulaire.

Or il est reconnu aujourd'hui que les auxines sont capables de déclencher ces trois phénomènes : c'est une question de dose.

SNOW montra le premier, en 1935 (248, 247), que l'auxine cristallisée de KÖGL peut activer la multiplication cellulaire ; d'après FIEDLER (96) certaines préparations impures d'auxines (extraits d'embryons de maïs) excitent ou inhibent, suivant leur concentration, le développement des racines. RUGE (238) admet le rôle des auxines endogènes dans la prolifération des méristèmes radiculaires : « Durch diese Versuche soll nun in keiner Weise die Bedeutung des Auxin *a* für die Entwicklungsvorgänge in den keimenden Samen geleugnet.... werden ». D'après GAUTHERET (103, p. 30) l'auxine synthétisée par les extrémités radiculaires représenterait « la véritable substance de division ». D'après CHOLODNY (57), KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN (144), un apport extérieur d'auxine ne ferait qu'inhiber le développement des racines, en provoquant la différenciation parenchymateuse des méristèmes. THIMANN (252) montre que l'auxine *a*, utilisée à une dose convenable, a un pouvoir rhizogène. Enfin l'action des auxines sur l'étirement cellulaire est classique.

L'étude des phytohormones a pu être généralisée grâce à la découverte (par KÖGL) d'un succédané « hormono-mimétique » ⁽¹⁾ : l'hétéroauxine (acide indol β acétique) que l'on prépare facilement par voie de synthèse. L'hétéroauxine a une action tout à fait comparable à celle des auxines; plus accessible à l'expérimentation, elle a fait l'objet de nombreuses recherches :

AMLONG (31, 32), FIEDLER (96), GEIGER-HUBER et BURLET (121) montrèrent que l'hétéroauxine très diluée active la croissance des racines, plus concentrée la ralentit; mais, comme l'a fait remarquer DUHAMET (78), ces auteurs ne se demandèrent pas « si l'hétéroauxine agit simplement sur l'*élongation* des cellules de la racine, ou si elle peut en outre provoquer la *multiplication* ». DUHAMET (78) et surtout GAUTHERET (103) ont définitivement démontré la polyvalence des hétéroauxines : elles provoquent, suivant la *dose* à laquelle elles sont appliquées, l'étirement cellulaire, la multiplication cellulaire, la rhizogenèse, ou l'accroissement isodiamétrique des cellules.

b) *Application des données précédentes au fonctionnement des méristèmes de racine.*

Nous retiendrons, pour notre part, trois caractères des auxines :

- 1° à des concentrations convenables, extrêmement faibles, elles peuvent exciter la prolifération cellulaire;
- 2° à des concentrations plus fortes, les effets s'inversent : les mitoses s'arrêtent, et les processus de différenciation s'étendent à la totalité du méristème;
- 3° les auxines synthétisées par les méristèmes sont polarisées (page 156).

Le fonctionnement des méristèmes de racine (c'est-à-dire, en somme, l'*organisation* de la mitose) nous paraît dériver de ces trois propriétés majeures, et l'on peut en entrevoir les phases successives (MEITÈS, 198) ⁽²⁾ :

L'auxine, synthétisée par les cellules embryonnaires à une dose excito-mitotique, diffuse dans la direction coiffe-collet; des mitoses sont déclenchées au voisinage de toute cellule embryonnaire qui

⁽¹⁾ Expression de MANGENOT (181, p. 232).

⁽²⁾ Cette question a fait l'objet d'une récente communication à l'Académie des Sciences (Meitès, *C. R. Ac. Sc.*, 1943, 217, pp. 548-550).

déverse sa charge d'hormone : c'est la zone de prolifération maxima où les cinèses relèveraient d'une véritable autocatalyse.

A mesure qu'il progresse à partir des cellules initiales, le flux polarisé d'auxine draine toutes les cellules productrices d'hormone et s'amplifie au point de *dépasser* la dose limite excito-mitotique : au delà d'une certaine limite *ab* du méristème (figure 18), la dose

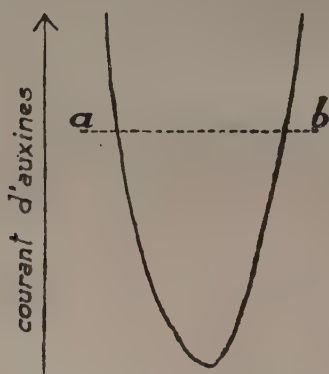


FIGURE 18, schématisant la distribution des auxines dans un méristème de racine

mito-inhibitrice est atteinte et déclenche, *par sa toxicité*, les processus de différenciation; la différenciation serait donc le résultat d'une contrainte cyto-chimique.

Le comportement cytophysiologique de la zone subterminale nous paraît susceptible d'expliquer *l'état de moindre résistance* maintes fois constaté.

Nous parvenons en définitive à un résultat remarquable : les auxines synthétisées dans les méristèmes exciteraient la prolifération d'une part, et d'autre part participeraient à un mécanisme frénateur s'opposant à toute multiplication excessive : l'action régulatrice du courant polarisé d'auxines limiterait automatiquement le contingent des cellules embryonnaires, réalisant un moyen naturel de défense contre l'hyperplasie cellulaire.

En résumé, les hormones sécrétées par les points végétatifs se voient conférer un triple rôle : par elles la prolifération serait *provoquée, orientée, limitée*.

§ V. — RÔLE DES NÉCROHORMONES
DANS LA STIMULATION BENZÉNIQUE DES RADICELLES,
CHEZ LUPINUS ALBUS L.

Nous avons montré (*pages* 97 et 104) que le benzène utilisé à certaines doses (demi-saturation et quart de saturation) stimule la production des radicelles.

Des faits analogues de stimulation des radicelles ou des racines adventives ont été décrits après action de l'oxyde de carbone et d'un certain nombre de carbures non saturés : éthylène, propylène, acétylène (travaux du Boyce Thompson Institute : 275, 277, 134, 64), de la colchicine (HAVAS, 131), de l'acide paraaminobenzoïque (MANGENOT et Mlle CARPENTIER, 182, 183, 184), de l'arrhéнал (MANGENOT, 180), enfin des hétéroauxines (acides de la série indolique et naphthalénique) dont l'action rhizogène est classique.

La réaction uniforme du végétal aux substances les plus diverses a déjà attiré l'attention de JOST (140) : elle caractérise le rôle de l'intoxication du pivot ou de la tige dans la stimulation des radicelles ou des racines adventives ⁽¹⁾.

Pour interpréter ces faits on peut faire appel à deux théories :

1° D'après l'ancienne théorie de HABERLANDT, tout traumatisme mécanique ou biologique provoque la formation de « nécrohormones » ou hormones de blessure, capables d'exciter la division cellulaire. Cette question resta longtemps très obscure ; mais divers travaux récents ont permis de confirmer l'existence des nécrohormones : ORSOS (222) montra en 1936 que la tyrosine, produit de désintégration protidique, peut exciter la prolifération cellulaire. BONNER, ENGLISH et HAAGEN-SMIT (85, 46, 47, 86, 87) ont isolé, de la gousse de certaines Légumineuses, une hormone de blessure très active : l'acide 1 décène -1,10 dicarboxylique, qui paraît être un produit de désintégration des acides gras. LOOFBOUROW et DWYER (165, 259) ont caractérisé, dans le suc de *Levure*, une substance active voisine

⁽¹⁾ Le cas des *hétéroauxines* doit toutefois être considéré à part : il n'est pas douteux en effet, à la suite des expériences de GAUTHERET, que les hétéroauxines ont un pouvoir excito-formateur spécifique : ces dernières doivent être considérées comme « des facteurs de multiplication fondamentaux » (GAUTHERET, 103, p. 36).

des acides nucléiques. Signalons enfin les intéressants travaux de BERRIER (41, 42) : des substances actives du type des auxines végétales se forment par désintégration histolytique de certains tissus animaux.

2° L'antagonisme bien connu du sommet végétatif et des racelles (*pages* 88 et 100) a été le point de départ d'une nouvelle théorie : les *auxines* délivrées par le méristème raculaire et les parties vertes du végétal seraient la cause de cet antagonisme ; l'altération du pivot par une substance toxique, ou par décapitation du méristème (70), modifierait la polarité et les conditions d'utilisation des auxines : c'est ainsi que P. DANGEARD interprète la stimulation traumatique des racelles. De son côté CASTAN suggère « qu'il pourrait y avoir un rapport entre les ramifications des racines et leur teneur en auxines » (51). En fait on connaît mal, à l'heure actuelle, le rôle des auxines raculaires.

Recherches personnelles.

Nous avons montré que la stimulation des racelles par le benzène utilisé aux faibles concentrations (demi-saturation et quart de saturation) doit être attribuée, tout au moins partiellement, à l'intervention de facteurs nécrotiques (*pages* 102 et 104).

D'autre part les résultats d'ordre biochimique obtenus par MASCRÉ et POUSSET (188) et par nous-même (*page* 101) démontrent que le benzène peut exciter les phénomènes de catabolisme glucidique et protidique.

Ces divers faits nous ramènent à l'ancienne conception de HABERLANDT : il ne paraît pas douteux que des nécrohormones interviennent dans la ramification de la racine altérée par le benzène.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

En limitant notre étude à quelques objets (extrémités radiculaires de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L., feuilles d'*Elodea canadensis* Rich., écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L.), nous avons entrepris d'analyser l'action de l'eau et du benzène. Voici les *principaux* résultats obtenus.

RÉSULTATS SPÉCIAUX

1^o Action de l'eau pure sur les extrémités radiculaires de *Lupinus albus* L. ayant germé à l'air.

Après 1 heure à 1 h. 30 de séjour dans un milieu hypotonique, le chondriome présente des formes vésiculeuses, le cytoplasme est vacuolisé, le vacuome est chargé de granulations sidérophiles.

Les altérations du chondriome sont réversibles et disparaissent 1^o quand les plantules sont replacées sur leur milieu aérien habituel, 2^o quand le séjour dans le milieu hypotonique se prolonge (processus d'adaptation).

Les modifications du vacuome ont une réversibilité moins constante.

2^o Action du benzène sur les extrémités radiculaires de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L.

ACTION DU BENZÈNE SUR LA CELLULE VIVANTE

Nous avons utilisé des solutions aqueuses de titres variables : eau benzinée saturée, eau benzinée saturée dédoublée, eau benzinée saturée diluée au quart. Il nous a fallu tenir compte des conditions créées par le milieu aqueux et discerner, en certains cas particuliers, la part de l'eau et celle du benzène.

Le benzène a des *propriétés mitoclasiques* se manifestant au maximum avec l'eau benzinée saturée dédoublée.

L'action du benzène sur le cytoplasme et le chondriome rappelle celle des nombreux narcotiques solvants dont les effets cytotoxiques ont été décrits par PICARD (24) et par ROLLEN (25).

Les conditions de *réversibilité* ont fait l'objet d'une étude approfondie.

a) *Modifications réversibles.*

Vacuolisation « benzénique » du cytoplasme (processus distinct, bien que morphologiquement analogue à la vacuolisation d'origine hypotonique).

Granulisation des chondriocentes.

Stathmocinèses.

b) *Modifications irréversibles.*

Plasmolyse.

Aspect granuleux du cytoplasme.

Agglutination des chondriosomes en sphérules (ce processus permet de définir avec précision la mort de la cellule).

Ségrégation des lipides osmioréducteurs d'origine cytoplasmique et mitochondriale : cette lipophanérose révèle l'existence de cénapses lipido-protidiques très labiles.

Destruction pycnotique des noyaux quiescents.

ACTION DU BENZÈNE SUR LA CELLULE FORMOLÉE

Par la délipidation benzénique postformolée, nous avons montré que le chondriome du Lupin et de l'Ail est riche en cénapses lipido-protidiques très stables, alcool-benzéno-résistantes. Ces résultats nous ont permis 1° de *perfectionner la technique IV A de Regaud*, en tenant compte des conditions optima de la délipidation (différentes pour le Lupin et pour l'Ail); 2° de *critiquer les techniques de Ciaccio*; 3° de démontrer la structure *granulaire* masquée du chondriocente, homologable avec la structure granulaire (bien connue aujourd'hui) des chloroplastes.

3° Observations vitales.

En perfusant des écailles bulbaires d'*Allium Cepa* L. avec une solution de Ringer saturée de benzène, nous avons montré que la

granulisation benzénique des chondriocentes s'effectue sans vésiculation préalable.

4° Action du benzène sur la perméabilité.

Utilisé à une dose non toxique (quart de saturation) le benzène peut augmenter réversiblement la perméabilité de la feuille d'*Elodea canadensis* Rich.

5° Action du benzène sur le développement de *Lupinus albus* L.

Nous avons surtout étudié l'évolution de l'appareil racinaire : l'eau benzinée saturée inhibe la formation des radicelles par destruction totale du pivot; à des doses plus faibles (demi-saturation et quart de saturation) l'eau benzinée stimule l'apparition des radicelles; ces faits de stimulation doivent être rapportés, au moins partiellement, à la production de nécrohormones.

RÉSULTATS GÉNÉRAUX

- 1° *La fixation formolée conserve à la cellule certaines propriétés physiologiques.*
- 2° *L'hypersensibilité et la moindre résistance de la zone subterminale de la racine sont démontrées par de nombreux faits d'ordre cytologique et morphologique.*

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1° Ouvrages généraux et thèses.

- 1 — BARBAUDY (J.). — Contribution à l'étude de la distillation des mélanges ternaires hétérogènes. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1925, 155 pages.
- 2 — BAZIN (Mlle S.). — Contribution à l'étude de l'action des substances toxiques sur la cellule végétale (*Elodea canadensis*). *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1941.
- 3 — BRACHET (J.). — Le rôle physiologique et morphogénétique du noyau. N° 698 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1938, 39 pages.
- 4 — DELAGE (B.). — Le système lipo-protéique du sérum sanguin. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1939, 232 pages.
- 5 — GAUTHERET (R.). — Recherches sur la culture des tissus végétaux. Essais de culture de quelques tissus méristématiques. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1935.
- 6 — GAUTHERET (R.). — La culture des tissus végétaux : son état actuel, comparaison avec la culture des tissus animaux. N° 554 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1937, 67 pages et 11 planches.
- 7 — GELLHORN (E.) et RÉGNIER (J.). — La perméabilité en physiologie et en pathologie générale. Masson, édit., Paris, 1936, 928 pages.
- 8 — GUILLIERMOND (A.). — Les constituants morphologiques du cytoplasme : le chondriome. N° 170 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1934, 128 pages et 39 figures.
- 9 — GUILLIERMOND (A.). — Les constituants morphologiques du cytoplasme. Le système vacuolaire ou vacuome. N° 171 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1934, 108 pages et 39 figures.
- 10 — GUILLIERMOND (A.). — Introduction à l'étude de la Cytologie. Première Partie. N° 741 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1938, 151 pages et 63 figures.
- 11 — GUILLIERMOND (A.). — Introduction à l'étude de la Cytologie. Deuxième Partie. N° 742 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1938, 61 pages et 15 figures.
- 12 — GUILLIERMOND (A.). — Introduction à l'étude de la Cytologie. Troisième Partie. N° 743 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1938, 84 pages et 19 figures.

- 13 — GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — *Traité de Cytologie végétale*. Le François, édit., Paris, 1933, 1195 pages.
- 14 — GUILLIERMOND (A.) et GAUTHERET (R.). — *Recherches sur la coloration vitale des cellules végétales*. Librairie générale de l'Enseignement, 4, Rue Dante, Paris, 1940, 262 pages et 10 planches.
- 15 — GUILLIERMOND (A.) et MANGENOT (G.). — *Précis de Biologie végétale*. Masson, édit., Paris, 1941, 1110 pages, 621 figures et 2 planches.
- 16 — JORIOT (R.). — *De l'influence exercée sur le développement des germes de Lupin par une solution alcaloïdique (Contribution à l'étude des altérations des solutions de chlorhydrate de cocaïne)*. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1937, 178 pages, 14 figures.
- 17 — KOLTZOFF (N. K.). — *Les molécules héréditaires*. N° 776 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1939, 60 pages et 27 figures.
- 18 — LANGERON (M.). — *Précis de microscopie*. Masson, édit., Paris, 1942, 1340 pages.
- 19 — LISON (L.). — *Histochimie animale*. Gauthier-Villars, édit., Paris, 1936, 320 pages.
- 20 — MACHEBŒUF (M.). — *Etat des lipides dans la matière vivante. Les cénapses et leur importance biologique*. N° 448 de la Coll. *Actual. Scientif. et Industr.*, Hermann, édit., Paris, 1937, 78 pages.
- 21 — MASCRÉ (M.). — *Recherches sur le développement de l'anthère chez les Solanacées (Contribution à l'étude de l'assise nourricière du pollen)*. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1921, 99 pages, 101 figures.
- 22 — MASCRÉ (M.). — *Exposé des titres et travaux scientifiques*. Paris, 1937, 60 pages et 6 figures.
- 23 — NOEL (R.). — *Recherches histophysiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères*. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1922, 158 pages, 8 planches. - *Arch. Anat. microsc.*, t. 19.
- 24 — PICARD (P.). — *Action de l'éther et du chloroforme sur la structure de la cellule végétale*. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1933, 85 pages, 4 planches.
- 25 — ROLLEN (A.). — *Action du chlorure d'éthyle, de l'octanol, des alcools amyliques, sur la structure de la cellule végétale*. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1936, 132 pages, 16 figures.
- 26 — SENTAIN (P.). — *L'action des toxiques sur la cellule en division*. *Thèse Doct. Médecine*, Montpellier, 1941, 252 pages, 4 planches. - *Mémoires Sect. Sciences, Acad. de Montpellier*, 3^e série, t. 1.
- 27 — TAYEAU (F.). — *Recherches sur la nature, la stabilité et le rôle biologique des liaisons unissant les lipides aux protéides dans le sérum sanguin*. *Thèse Doct. Sciences*, Bordeaux, 1939, 146 pages.
- 28 — THOMAS (P.). — *Manuel de Biochimie*. Masson, édit., Paris, 1936, 978 pages.
- 29 — TURCHINI (J.). — *Contribution à l'étude de l'Histologie comparée de la cellule rénale. L'excrétion urinaire chez les Mollusques*. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1923, 253 pages, 4 planches. - *Arch. Morphol. génér. et expér.*, t. 18.

- 30 — TURCHINI (J.). — Aide-mémoire d'Histologie et d'Embryologie. Tome I : Cellule, Embryologie. G. Doin, édit., Paris, 1943, 131 pages, 62 figures.

2° Notes et articles originaux

- 31 — AMLONG (H. U.). — Zur Frage der Wuchstoffwirkung auf das Wurzelwachstum. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1936, **83**, pp. 773-780.
- 32 — AMLONG (H. U.). — Ueber die Bedeutung des Wuchstoffes für Wachstum und Geotropismus der Wurzel. *Ber. d. deutsch. Bot. Gesellsch.*, 1937, **55**, pp. 183-186.
- 33 — BARBAUDY (J.). — La fabrication industrielle de l'alcool absolu. *Annales de l'Office National des Combustibles Liquides*, 1928, n° 2, pp. 191-218.
- 34 — BARIGOZZI (C.). — Lo studio degli spodogrammi dei cromosomi. *Commentationes (Pontificia Academia Scientiarum)*, 1937, **1**, n° 9, pp. 333-349.
- 35 — BEAR (R. S.), PALMER (K. J.) et SCHMITT (F. O.). — X-ray diffraction studies of nerve lipides. *Journ. of. cellul. and comp. Physiol.*, 1941, **17**, pp. 355-369.
- 36 — BEAUVERIE (J.). — Sur la valeur des inclusions huileuses ou lipoïdes des plastes (leuco- ou chloroplastes) et des mitochondries. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, pp. 311-312.
- 37 — BEAUVERIE (J.). — Etudes de Cytologie expérimentale. Action de la saponine, de la lécithine et de l'oléate de sodium sur les chromoplastes des pétales de Renoncules. *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1938, t. III, pp. 65-79.
- 38 — BEAUVERIE (J.). — La structure granulaire des grains de chlorophylle. *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1938, t. III, pp. 80-109.
- 39 — BEAUVERIE (J.) et CORNET (P.). — Action des vapeurs d'éther sur la structure cellulaire dans les feuilles et les bourgeons d'*Elodea canadensis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **101**, pp. 814-815.
- 40 — BELEHRADEK (J.). — A propos de la base théorique des coefficients de température des processus protoplasmiques. *Protoplasma*, 1932, **16**, pp. 102-131.
- 41 — BERRIER (H.). — Sur les matières actives du type des auxines végétales qui peuvent se révéler au cours du cycle évolutif de *Lucilia* Sp. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, pp. 453-455.
- 42 — BERRIER (H.). — Sur la présence de substances fonctionnant comme les auxines végétales dans le sang et divers organes autolysés du Discoglosse et du Cobaye. *C. R. Acad. Sc.*, 1939, **208**, pp. 1677-1679.
- 43 — BERTHON (R.). — Recherches sur l'origine et le mode de formation des radicelles chez quelques Angiospermes. Diplôme d'Et. sup. de Sc. natur., Paris, 1942, cité d'après l'« Année Biologique », 1943, **19**, p. 249.

- 44 — BIEDERMANN (W.). — Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung - VII. Dringen Verdauungsfermente in geschlossene Pflanzenzellen ein? *Pfluger's Arch.*, 1919, **174**, pp. 358-391.
- 45 — BIEDERMANN (W.). — Ueber Wesen und Bedeutung der Protoplasmalipoide. *Pfluger's Arch.*, 1924, **202**, pp. 223-258.
- 46 — BONNER (J.) et ENGLISH (J.). — Purification of Traumatol, a plant wound hormone. *Science*, 1937, **86**, p. 352.
- 47 — BONNER (J.) et ENGLISH (J.-Jr.). — A chemical and physiological study of Traumatol, a plant wound hormone. *Plant Physiology*, 1938, **13**, pp. 331-348.
- 48 — BRAIN (Miss E. D.). — Transverse distribution of hormones in plants. *Nature*, 1940, **145**, p. 316.
- 49 — BUVAT (R.). — Sur les premières divisions des cellules du parenchyme libérien de Carotte cultivé in vitro. *C. R. Acad. Sc.*, 1942, **214**, pp. 984-986.
- 50 — CASTAN (R.). — Sur le rôle des hormones animales et végétales dans le développement et l'organogenèse des plantes vasculaires : les « Organismateurs » végétaux. *Rev. gén. Botan.*, 1940, **52**, N° 616, pp. 192-208.
- 51 — CASTAN (R.). — Variation dans la morphologie de la racine d'*Allium Cepa* sous l'action de l'acide indol β acétique. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 765-766.
- 52 — CELAN (Mlle M.). — Sur la structure des cellules centrales d'*Halopotys pinastroides*. *C. R. Ac. Sc.*, 1938, **206**, pp. 856-858.
- 53 — CELAN (Mlle M.). — Nouvelles recherches préliminaires sur les synapses des Algues rouges. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, **208**, pp. 116-118.
- 54 — CELAN (Mlle M.). — Recherches cytologiques sur les Algues rouges. *Rev. Cytol. et Cytophysiol. végét.*, 1941, t. V, pp. 1-168; 7 planches.
- 55 — CERIGHELLI (R.) et DAVID (R.). — Nouvelles recherches sur la germination dans l'eau pure. II. Préparation de l'eau. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1942, **24**, pp. 1085-1089.
- 56 — CERIGHELLI (R.) et DAVID (R.). — Influence du calcium sur la germination. Comportement des graines à germination épigée. *Revue Scientif.*, 1942, n° 3206, pp. 134-136.
- 57 — CHOLODNY (N.). — Zur Physiologie des pflanzischen Wuchshormons. *Planta. Arch. f. wissenschaft. Bot.*, 1931, **14**, pp. 207-216.
- 58 — CIACCIO (C.). — Sur la distribution des lipoides histogènes (histolipoides) dans la cellule. *C. R. Assoc. Anat.*, 1926, Liège, pp. 160-165.
- 59 — CIACCIO (C.). — Contributo all' istochimica dei lipidi. *C. R. Assoc. Anat.*, 1930, 25^e réunion, Amsterdam, pp. 87-92.
- 60 — CIACCIO (C.). — Istolipidi ed immagini citologiche ad essi riferibili. *Monitore Zoologico Italiano*, 1936, **47**, Suppl., pp. 274-279.
- 61 — CORNET (P.). — Action des vapeurs d'éther sur les plastes cellulaires. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **105**, pp. 387-389.

- 62 — CORNET (P.). — Action des vapeurs de chloroforme sur la structure cellulaire dans les feuilles de *Linaria cymbalaria*. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **105**, pp. 389-390.
63. — COUJARD (R.). — Mise en évidence des phénols dans les tissus par formation de polymères du type bakélite. Application à la coloration du chondriome. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, **136**, pp. 407-408.
- 64 — CROCKER (W.), HITCHCOCK (A. E.) et ZIMMERMANN (P. W.). — Similitudes in the effects of ethylene and plant auxins. *Contrib. Boyce Thompson Instit.*, 1935, **7**, p. 231.
- 65 — DANGEARD (P.). — L'action des fixateurs sur les noyaux euchromocentriques. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **212**, pp. 173-175.
- 66 — DANGEARD (P.). — Sur les changements de structure réversibles des noyaux et du cytoplasme dans les poils aériens de la Courge. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **212**, pp. 713-716.
- 67 — DANGEARD (P.). — Sur quelques modifications pathologiques des plastes et sur la mise en évidence d'une membrane plastidaire. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **213**, pp. 384-387.
- 68 — DANGEARD (P.). — Le rôle des différents constituants cellulaires dans la survie, en particulier du chondriome. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **213**, pp. 697-699.
- 69 — DANGEARD (P.). — Sur les changements de structure réversibles dans le noyau et le cytoplasme des cellules de *Bryonia dioica*. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 766-768.
- 70 — DANGEARD (P.). — Sur la formation des radicules dans l'*Allium Cepa* à la suite de la décapitation des racines. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 1239-1241.
- 71 — DANGEARD (P.). — Interprétation de la structure dans les noyaux euchromocentriques. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, **136**, pp. 549-551.
- 72 — DELAGE (B.). — Contribution à l'étude de la stabilité des liaisons lipido-protéidiques dans le sérum sanguin. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1935, **17**, pp. 927-937.
- 73 — DELAGE (B.). — Extractibilité comparée des lipides des globulines et des albumines du sérum sanguin. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1938, **20**, pp. 892-897.
- 74 — DELAY (Mlle C.). — Recherches sur le noyau des Légumineuses. *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1940, t. IV, pp. 183-230.
- 75 — DERRY (Bayoumi Hussein El). — Plasmolyseform und Plasmolysezeitstudien. *Protoplasma*, 1930, **8**, pp. 1-49.
- 76 — DERVICHIAN (D.). — Remarques sur la solubilité des protéines. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1942, **24**, pp. 337-340.
- 77 — DERVICHIAN (D.) et MAGNAN (C.). — Particularités dans l'étalement du sérum. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1943, **25**, pp. 192-194.
- 78 — DUHAMET (L.). — Action de l'hétéroauxine sur la croissance des racines isolées de *Lupinus albus*. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, **208**, pp. 1838-1840.

- 79 — DUHAMET (L.). — Action de la colchicine sur la croissance de méristèmes radiculaires de *Lupinus albus*. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, pp. 757-759.
- 80 — DUSTIN (A. P.). — Remarques sur les effets caryoclasiques du benzol. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **107**, pp. 1567-1569.
- 81 — DUSTIN (A. P.). — A propos des applications des poisons caryoclasiques à l'étude des problèmes de pathologie expérimentale, de cancérologie et d'endocrinologie. *Arch. f. experim. Zellforsch.*, 1939, **22**, pp. 395-406.
- 82 — EFTIMIU-HEIM (Mme P.). — Sur la structure du noyau quiescent dans la famille des Orchidées. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **212**, pp. 1096-1098.
- 83 — EIBL (K.). — Lipophaneroze der Plastiden von *Spirogyra* durch K. Oleat und andere Seifen. *Protoplasma*, 1940, **34**, pp. 343-346.
- 84 — EMBERGER (L.). — Recherches sur le protoplasme des Lycopodiées. *Arch. Anat. Microsc.*, 1923, **19**, pp. 309-348.
- 85 — ENGLISH (J. Jr.) et BONNER (J.). — The wound hormones of plants. I. Traumatins, the active principle of the bean test. *Journ. of biologic. Chemistry*, 1937, **121**, pp. 791-799.
- 86 — ENGLISH (J. Jr.), BONNER (J.) et HAAGEN-SMIT (A. J.). — The wound hormones of plants. II. The isolation of a crystalline active substance. *Proceed. of the nat. Acad. of Sc.*, 1939, **25**, pp. 323-329.
- 87 — ENGLISH (J. Jr.), BONNER (J.) et HAAGEN-SMIT (A. J.). — The wound hormones of plants. IV. Structure and synthesis of a Traumatins. *J. of Americ. Chem. Soc.*, 1939, **61**, pp. 3434-3436.
- 88 — FABER (E. R.). — Wuchsstoffversuche an Keimwurzeln. *Jahrb. f. wissenschaft. Bot.*, 1936, **83**, pp. 439-469.
- 89 — FAURE (M.). — Action de l'éther sur les hématies. L'extraction des lipides par excès d'éther. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, p. 231.
- 90 — FAURÉ-FREMIET (E.). — Etudes sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. *Arch. Anat. microsc.*, 1910, **11**, pp. 457-648.
- 91 — FAURÉ-FREMIET (E.), MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Sur la constitution et le rôle des mitochondries. *C. R. Soc. Biol.*, 1909, **66**, pp. 921-923.
- 92 — FAURÉ-FREMIET (E.), MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Sur les réactions chimiques des mitochondries. *C. R. Soc. Biol.*, 1909, **67**, pp. 769-771.
- 93 — FAURÉ-FREMIET (E.), MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Sur la microchimie des corps gras; application à l'étude des mitochondries. *Arch. d'Anat. Microsc.*, 1910, **12**, pp. 19-102.
- 94 — FAURÉ-FREMIET (E.) et BAUDOUY (C. T.). — Les propriétés optiques de l'ovokératine. *Arch. Anat. microsc.*, 1939, **35**, pp. 77-90.
- 95 — FÉLICE (Liane de). — Variations de la résistance électrique des végétaux terrestres sous diverses influences. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **113**, pp. 302-303.

- 96 — FIEDLER (H.). — Entwicklungs- und reizphysiologische Untersuchungen an Kulturen isolierter Wurzelspitzen. *Zeitschr. f. Bot.*, 1936, **30**, pp. 385-436.
- 97 — FOURCROY (Mlle M.). — Modifications de l'insertion des radicules dans les racines traumatisées. *C. R. Acad. Sc.*, 1935, **200**, pp. 2213-2214.
- 98 — FOURCROY (Mlle M.). — Accélération évolutive des radicules dans les racines traumatisées. *C. R. Ac. Sc.*, 1936, **202**, pp. 1081-1083.
- 99 — FREY-WYSSLING (A.). — Der Aufbau der Chlorophyllkörner. *Protoplasma*, 1938, **29**, 279-299.
- 100 — FUEHNER (H.). — Die narkotische Wirkung des Benzins und seiner Bestandteile (Pentan, Hexan, Heptan, Octan). *Biochem. Zeitschr.*, 1921, **115**, pp. 235-261.
- 101 — GARRIGUES (R.). — Action de la colchicine et du chloral sur la racine de *Vicia Faba*. *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1940, t. IV, pp. 261-301.
- 102 — GARRIGUES (R.). — Action de quelques substances huileuses sur les racines de *Pisum sativum*. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 1065-1068.
- 103 — GAUTHERET (R.). — Hétéroauxines et cultures de tissus végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1942, **24**, pp. 13-48.
- 104 — GAUTHERET (R.). — Recherches sur le développement des tissus végétaux cultivés in vitro. *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1942-1943, t. VI, pp. 85-208.
- 105 — GAVAUDAN (P. et N.). — Modifications numériques et morphologiques des chromosomes, induites chez les végétaux par l'action de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **126**, p. 985.
- 106 — GAVAUDAN (P. et N.). — Mécanisme d'action de la colchicine sur la caryocinèse des végétaux. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **128**, pp. 714-716.
- 107 — GAVAUDAN (P. et N.). — Tuméfaction des racines par les substances modificatrices de la caryocinèse. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, pp. 168-171.
- 108 — GAVAUDAN (P. et N.). — Mise en évidence sur les méristèmes radiculaires de *Triticum vulgare* de l'existence d'une propriété mitoinhibitrice commune aux divers apiols. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, pp. 998-1000.
- 109 — GAVAUDAN (P. et N.). — Action du 1, 2, 4, 5 tétraméthylbenzène sur la caryocinèse, la cytodièrese et la croissance végétales. *C. R. Trav. Fac. Scienc. Marseille*, 1941, première série, t. I, fasc. 2 et 3, pp. 40-42.
- 110 — GAVAUDAN (P.). — La pathologie expérimentale de la caryocinèse et de la cytodièrese. *Bull. Mus. Hist. nat. de Marseille*, 1941, **1**, n° 1, pp. 13-40.
- 111 — GAVAUDAN (P.). — Essai d'explication du mécanisme de rotation de l'axe de caryocinèse et du plan de cytodièrese dans la cellule végétale soumise à l'action de substances modificatrices de la caryocinèse. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, **136**, pp. 419-420.

- 112 — GAVAUDAN (P. et N.). — Action du benzène et de ses homologues sur la caryocinèse et la cytodièrese végétales. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, p. 50.
- 113 — GAVAUDAN (P.). — Etude quantitative de l'action mito-inhibitrice des substances aromatiques; définition et terminologie des effets cytologiques utilisés comme test. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 281-283.
- 114 — GAVAUDAN (P.). — Etude quantitative de la mito-inhibition dans la cellule végétale. Description d'une technique applicable à divers essais pharmacodynamiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 342-343.
- 115 — GAVAUDAN (P. et N.). — Analogies entre les effets exercés sur la caryocinèse et la cytodièrese végétales par le chloroforme et les substances aromatiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 509-510.
- 116 — GAVAUDAN (P.). — Analogie de la réaction tropocinétiqne provoquée dans le méristème radicalaire de Blé par l'éther éthylique et les substances mito-inhibitrices de la série aromatique; rapport avec la narcose. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 571-573.
- 117 — GAVAUDAN (P.) et KOBOZIEFF (N.). — Action de la colchicine sur la caryocinèse et la cytodièrese des Chlamydomonadinées. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, pp. 790-793.
- 118 — GAVAUDAN (P. et N.) et DURAND (J. F.). — Action exercée sur la caryocinèse et la cytodièrese par quelques hydrocarbures et leurs dérivés. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, **208**, pp. 593-595.
- 119 — GAVAUDAN (P. et N.) et POUSSEL (H.). — Activité mito-inhibitrice de la plupart des fonctions dans la série aromatique, opposée à l'activité pratiquement nulle ou réduite de la fonction carboxyle. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 570-571.
- 120 — GAVRILESCU (N.). — Nouvelles remarques sur la déformation de la fibre nerveuse sous l'action du chloroforme et de l'éther. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **101**, pp. 267-269.
- 121 — GEIGER-HUBER (M.) et BURLET (E.). — Ueber den hormonalen Einfluss der β Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. *Jahrb. f. wissensch. Bot.*, 1937, **84**, pp. 233-253.
- 122 — GICKLORN (J.). — Intracelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. *Protoplasma*, 1932, **15**, pp. 90-109.
- 123 — GILES (N.). — The effect of dehydration on microsporogenesis in *Tradescantia*. *Amer. J. of Bot.*, 1939, **26**, 334-339, cité d'après GARIGUES in *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, p. 1065, et d'après MANGENOT in *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1941, t. V, p. 169.
- 124 — GIROUD (A.). — Structure des chondriosomes. *C. R. Ac. Sc.*, 1928, **186**, pp. 794-795.
- 125 — GOSSELIN (A.). — Action, sur la mitose des végétaux, de deux alcaloïdes puriques. *C. R. Ac. Sc.*, 1940, **210**, pp. 544-546.

- 126 — GROSS (P. M.) et SAYLOR (J. H.). — The solubilities of certain slightly soluble organic compounds in water. *Journ. of Amer. Chem. Soc.*, 1931, **53**, pp. 1744-1751.
- 127 — GUINOCHE (M.). — Observations et réflexions sur l'action de la colchicine sur les cellules végétales. *Bull. Hist. appl.*, 1941, **18**, n° 8, pp. 213-222.
- 128 — HANSTEEN-CRANNER (B.). — Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten (Vorläufige Mitt.). *Ber. d. deutsch. Bot. Gesellschaft*, 1919, **37**, p. 380.
- 129 — HARVEY (E. N.). — Studies on the permeability of cells. *Journ. of exp. Zool.*, 1911, **10**, pp. 507-556.
- 130 — HATTORI (K.). — Kolloidstudien über den Bau der roten Blutkörperchen und über Hämolyse. III. Ultramikroskopische Untersuchungen an Lipoiden. *Biochem. Zeitschr.*, 1921, **119**, pp. 45-64.
- 131 — HAVAS (L. J.). — Is colchicine a phytohormone? *Growth*, 1938, t. II, n° 3, pp. 257-260.
- 132 — HEILBRONN. — Jahrb. f. wissensch. Bot. 1914, **54**, p. 355, cité d'après GELLHORN et REGNIER in « La perméabilité en Physiologie et en Pathologie générale ». Masson, édit., Paris, 1936, 928 pages.
- 133 — HILL (A. E.). — The mutual solubility of liquids. *Journ. of Amer. Chem. Soc.*, 1922, **44**, p. 1143.
- 134 — HITCHCOCK (A. E.). — Indol 3 n. propionic acid as a growth hormone and the quantitative measurement of plant response. *Contrib. Boyce Thompson Institute*, 1935, **7**, pp. 87-95.
- 135 — HÖFLER (K.) et WEBER (F.). — Die Wirkung der Aethernarkose auf die Harnstoffpermeabilität von Pflanzenzellen. *Jahrb. f. wissensch. Bot.*, 1926, **65**, p. 643.
- 136 — HOFMEISTER (F.). — Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Ueber die wasserentziehende Wirkung der Salze. *Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol.*, 1889, **25**, pp. 1-30.
- 137 — HOMÈS (M.). — Les méthodes plasmolytiques dans l'étude de la perméabilité cellulaire. *Bull. Acad. Roy. de Belgique, classe des Sciences*, 1932, **18**, pp. 369-379.
- 138 — JANOT (M. M.). — Les hormones de croissance chez les végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1936, **18**, pp. 1741-1768.
- 139 — JANOT (M. M.) et LACHAUX (M.). — Auxines, hétéroauxine et substances synthétiques excitant la croissance des végétaux. *Rev. Scientif.*, 1941, n° 3, pp. 163-175.
- 140 — JOST (L.). — Wuchsstoff und Zellteilung. *Ber. d. deutsch. Botan. Gesellsch.*, 1935, **53**, pp. 733-750.
- 141 — JOST (L.). — Ueber Wuchsstoffe (Zweiter zusammenfassender Bericht). *Zeitschr. f. Bot.*, 1937, **31**, pp. 95-121.
- 142 — JOST (L.) et REISS (E.). — Zur Physiologie der Wuchsstoffe. *Zeitschr. f. Bot.*, 1937, **31**, pp. 65-95.

- 143 — KAMNEV (J. E.). — Der Einfluss von hypo- und hypertonen Lösungen auf die Struktur und Vitalfärbung der Epithzellen des Amphibiendarmes (*Rana temporaria*, *Triton taeniatus*). *Protoplasma*, 1934, 21, pp. 169-180.
- 144 — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A.) et ERXLEBEN (H.). — Ueber den Einfluss der Auxin auf das Wurzelwachstum und über die chemische Natur des Auxins der Gras-Koleoptilen. *Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, 1934, 228, pp. 104-112.
- 145 — KOPACZEWSKI (W.). — La couche limitante cellulaire. *Protoplasma*, 1934, 20, pp. 407-439.
- 146 — KOSTOFF (D.). — Protoplasmic viscosity in plants. I. Protoplasmic viscosity of dividing cells in floral buds of Tobacco. *Protoplasma*, 1930, 11, pp. 177-183.
- 147 — KOSTOFF (D.). — Protoplasmic viscosity in plants. II. Cytoplasmic viscosity in callus tissue. *Protoplasma*, 1930, 11, pp. 184-189.
- 148 — LEFÈVRE (J.). — Actions similaires sur les mitoses végétales de l'anéthol et des substances du groupe de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, 133, pp. 616-618.
- 149 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ueber die chemische Zusammensetzung der lebenden Materie. *Biochem. Zeitschr.*, 1926, 171, pp. 126-145.
- 150 — LEPESCHKIN (W. W.). — Mechanische Koagulation und Analogie zwischen Grundstoffen der lebenden Materie und Explosivstoffen. *Arch. f. experim. Zellforsch.*, 1927, 4, pp. 212-245.
- 151 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ueber den Zusammenhang zwischen mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas und die Wirkungsart einiger Schutzstoffe. *Protoplasma*, 1927, 2, pp. 239-270.
- 152 — LEPESCHKIN (W. W.). — *Americ. Journ. of Bot.*, 1932, 19, p. 568, cité d'après LEPESCHKIN in *Protoplasma*, 1936, 25, pp. 301-332.
- 153 — LEPESCHKIN (W. W.). — Zur Technik der chemischen Analyse des Cytoplasmas. *Protoplasma*, 1934, 20, pp. 321-325.
- 154 — LEPESCHKIN (W. W.). — Fortschritte der Kolloidchemie des Protoplasmas in den letzten zehn Jahren. II. *Protoplasma*, 1936, 25, pp. 124-149.
- 155 — LEPESCHKIN (W. W.). — Fortschritte der Kolloidchemie des Protoplasmas in den letzten zehn Jahren. III. *Protoplasma*, 1936, 25, pp. 301-332.
- 156 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. I. Gesamtstreuung und PLOTNIKOW-Effekt in lebenden und toten Zellen und Geweben. *Protoplasma*, 1939, 33, pp. 50-72.
- 157 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. II. Veränderung der Vitaidmoleküle im Stoffwechsel und bei der Einwirkung verschiedener Substanzen. *Protoplasma*, 1940, 34, pp. 161-176.

- 158 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. III. Anteil des Tyndall - und PLOTNIKOW - Effekts an der Streuung lebender und toter Zellen und Schätzung des Molekulargewichts der Vitaide. *Protoplasma*, 1941, 35, pp. 95-114.
- 159 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. IV. Molekulargewicht der Vitaide. *Protoplasma*, 1941, 36, pp. 52-76.
- 160 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. V. Veränderung des Molekulargewichts der Vitaide unter dem Einfluss des Wassergehalts des Protoplasmas und dem des Lichts. *Protoplasma*, 1942, 36, pp. 414-429.
- 161 — LEPESCHKIN (W. W.). — Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. VI. Anteil des Tyndall - und PLOTNIKOW - Effekts an der Streuung der Gewebe und Schätzung des Molekulargewichts ihrer Vitaide. *Protoplasma*, 1942, 37, pp. 25-48.
- 162 — LEVI (G.). — La structure du cytoplasme des cellules des Méta-zoaires. *C. R. Assoc. Anat.*, 1925, Turin, pp. 1-20.
- 163 — LOISELEUR (J.). — La dénaturation des protéides sous l'action secondaire du formol. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, p. 435.
- 164 — LOISELEUR (J.) et PRUDHOMME (R. O.). — Fluorescence des acides aminés consécutivement à l'action secondaire du formol. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1942, 24, pp. 244-247.
- 165 — LOOFBOUROW (J.) et DWYER (C. M.). — Effect of the suspending medium on the production of growth factors by injured cells. *Nature*, 1940, 145, p. 185.
- 166 — LOURAU-DESSUS (M.). — Quelques observations sur les mouvements protoplasmiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 99, pp. 60-62.
- 167 — MACHEBŒUF (M.). — Recherches sur les phosphoaminolipides et les stérides du sérum et du plasma sanguin. I. Entraînement des phospholipides, des stérols et des stérides par les diverses fractions au cours du fractionnement des protéides du sérum. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, 11, pp. 268-293.
- 168 — MACHEBŒUF (M.). — Recherches sur les phosphoaminolipides et les stérides du sérum et du plasma sanguin. II. Etude physico-chimique de la fraction protéidique la plus riche en phospholipides et en stérides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, 11, pp. 485-503.
- 169 — MACHEBŒUF (M.) et SANDOR (G.). — Etude de l'extraction des lipides du sérum sanguin par l'éther en présence d'alcool. *C. R. Ac. Sc.*, 1932, 194, pp. 1102-1104.
- 170 — MACHEBŒUF (M.) et SANDOR (G.). — Recherches sur la nature et la stabilité des liaisons protéides-lipides du sérum sanguin. Etude de l'extraction des lipides par l'éther en présence d'alcool. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1932, 14, pp. 1168-1190.

- 171 — MACHEBŒUF (M.) et JANUSZKIEWICZ (Mme M.). — Etudes sur les cénapses lipido-protéidiques du sérum sanguin. Nature des protéides entrant dans la constitution de ces cénapses. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1937, **19**, pp. 694-706.
- 172 — MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Sur l'état des lipides et du cholestérol dans le sérum sanguin; destruction de certaines cénapses lipido-protéidiques et libération de leurs substances lipoidiques par un savon. *C. R. Ac. Sc.*, 1938, **206**, pp. 860-862.
- 173 — MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Libération des lipides de certaines cénapses lipido-protéidiques du sérum sanguin par divers savons. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, pp. 1181-1184.
- 174 — MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Méthode permettant de délipider, sans les dénaturer, les globulines du sérum sanguin. Application à l'étude du rôle des lipides dans le fractionnement des globulines en euglobulines et pseudoglobulines. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, pp. 1184-1186.
- 175 — MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Nouvelles recherches sur la nature et la stabilité des liaisons unissant les lipides aux protéides dans le sérum sanguin. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1941, **23**, pp. 31-48.
- 176 — MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Action des savons et de l'éther sur les cénapses lipido-protéidiques contenues dans les diverses fractions protéidiques du sérum sanguin. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1941, **23**, pp. 49-61.
- 177 — MAIGE (A.). — Hétérogénéité physico-chimique des plastes. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, **196**, pp. 424-426.
- 178 — MANGENOT (G.). — Hypertrophie des racines produite par la colchicine chez quelques plantes. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **128**, pp. 565-568.
- 179 — MANGENOT (G.). — L'action de la colchicine sur les cellules végétales. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, **208**, pp. 222-224.
- 180 — MANGENOT (G.). — Effets cytotoxiques de quelques composés de l'Arsenic pentavalent. *C. R. Ac. Sc.*, 1940, **210**, pp. 412-415.
- 181 — MANGENOT (G.). — Substances mitoclasiques et cellules végétales. Etat actuel de la question d'après les travaux publiés jusqu'à la fin de 1940. *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1941, t. V, fasc. 3-4, pp. 169-264.
- 182 — MANGENOT (G.) et CARPENTIER (Mlle S.). — Action du p. aminophénylsulfamide et de l'acide p. aminobenzoïque sur les végétaux supérieurs. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 1053-1057.
- 183 — MANGENOT (G.) et CARPENTIER (Mlle S.). — Effets produits, sur des végétaux supérieurs, par l'acide indol β acétique agissant en synergie avec le p. aminophénylsulfamide ou l'acide p. aminobenzoïque. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 1057-1060.
- 184 — MANGENOT (G.) et CARPENTIER (Mlle S.). — Sur les modifications structurales provoquées dans les racines de Pois par le p. aminophénylsulfamide et l'acide p. aminobenzoïque. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, pp. 1152-1155.

- 185 — MARQUEZ (J.). — Un nouveau procédé de chromage des pièces sur coupes, simple et rapide, pour mettre en évidence le chondriome. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **112**, pp. 1056-1058.
- 186 — MARQUEZ (J.). — Le chromage des pièces sur coupes. *C. R. Assoc. Anat.*, 1933, Lisbonne, pp. 436-438.
- 187 — MASCRÉ (M.). — Nouvelles remarques sur la fixation du chondriome de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 1929, **188**, pp. 811-813.
- 188 — MASCRÉ (M.) et POUSSET (M.). — Action des vapeurs de chloroforme, d'éther et de benzène sur les constituants glucidiques de la feuille d'*Aucuba japonica* Thunb. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1933, **40**, pp. 257-271.
- 189 — MAYER (A.), SCHAEFFER (G.) et RATHERY (F.). — Valeur de quelques méthodes histologiques pour la fixation des corps gras. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **74**, pp. 241-243.
- 190 — MAYER (A.), RATHERY (F.) et SCHAEFFER (G.). — Action des fixateurs chromo-osmiques sur les lipoides des tissus. I. Action hydrolysante. Action oxydante. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **75**, pp. 136-139.
- 191 — MEDES (G.) et Mc CLENDON (J. F.). — Effects of anaesthetics on various cell activities. *Journ. of Biolog. Chemistry*, 1920, **42**, pp. 541-568.
- 192 — MEITÈS (M.). — Action de l'eau benzinée sur le développement des radicelles chez le Lupin blanc. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, pp. 424-425.
- 193 — MEITÈS (M.). — Propriétés excito-formatrices de l'eau benzinée. *Bull. Soc. Bot. de Fr.*, 1939, **86**, pp. 304-310.
- 194 — MEITÈS (M.). — Remarques sur la fixation du chondriome de la cellule végétale, après action d'une substance apolaire. *Bull. Soc. Bot. de France*, 1941, **88**, pp. 410-413.
- 195 — MEITÈS (M.). — Action de l'eau benzinée sur la structure de la cellule végétale. (Contribution à l'étude physiologique et chimique de la cellule). *Bull. Soc. Bot. de Fr.*, 1942, **89**, pp. 79-87.
- 196 — MEITÈS (M.). — Action de l'eau benzinée sur la structure de la cellule végétale (*Lupinus albus* L.). *Bull. Ac. Sc. et Lett. de Montpellier*, 1942, **72**, pp. 10-15, 1 planche.
- 197 — MEITÈS (M.). — Action de l'eau benzinée sur la cellule végétale. Application de la délipidation benzénique à la technique mitochondriale de Regaud. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 225-226.
- 198 — MEITÈS (M.). — Organisation de la mitose dans les méristèmes. *C. R. Soc. Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, in *Montpellier Médical*, 1943, **23-24**, 3^e série, n^o 6, pp. 600-601.
- 199 — MENKE (W.). — Chloroplasten-Studien. *Protoplasma*, 1934, **21**, pp. 279-298.
- 200 — MENKE (W.). — Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen. I. Isolierung von Chloroplasten aus Spinatblättern. *Zeitschr. f. physiolog. Chemie*, 1938 b, **257**, pp. 43-48.

- 201 — MENKE (W.). — Untersuchungen über den Feinbau des Protoplasmas mit dem Universal-Elektronenmikroskop. *Protoplasma*, 1941, 35, pp. 115-130.
- 202 — MENKE (W.) et KÜSTER (H. J.). — Dichroismus und Doppelbrechung vergoldeter Chloroplasten. *Protoplasma*, 1938, 30, pp. 283-290.
- 203 — MENKE (W.) et JACOB (E.). — Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen. IV. Die Lipide der Spinatchloroplasten. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 1942, 272, pp. 227-231.
- 204 — MILOVIDOV (P.). — Sur la constitution chimique des chondriosomes et des plastes chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1928, 187, pp. 140-142.
- 205 — MILOVIDOV (P.). — Observations vitales sur l'altération du chondriome chez *Saprolegnia* sous l'influence de divers facteurs externes. *Rev. gén. Botan.*, 1929, 41, p. 193.
- 206 — MILOVIDOV (P.). — Zur Theorie und Technik der Nuklealfärbung. *Protoplasma*, 1936, 25, pp. 570-597.
- 207 — MILOVIDOV (P.). — Durch Welken und Austrocknen künstlich hervorgerufene Mixoploidie bei Pflanzen. *Protoplasma*, 1938, 30, pp. 427-459.
- 208 — MODER (A.). — Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. *Protoplasma*, 1932, 16, pp. 1-55.
- 209 — MONNÉ (L.). — Polarisationsoptische Untersuchungen über den Golgiapparat und die Mitochondrien männlicher Geschlechtszellen einiger *Pulmonate*-Arten. *Protoplasma*, 1939, 32, pp. 184-192.
- 210 — MOORE (B.) et ROAF (H. E.). — On certain physical and chemical properties of solutions of chloroform and other Anaesthetics. A contribution to the Chemistry of Anaesthesia (Second communication). *Proceed. of the Roy. Soc.*, 1906, 77 B, pp. 86-102.
- 211 — MULON (P.). — Action de l'acide osmique sur les graisses. *Histo-chimie et technique. C. R. Assoc. Anat.*, 1904, t. VI, pp. 12-23.
- 212 — NADSON (G. A.) et MEISL (M. N.). — Le mécanisme de l'action du chloroforme sur la matière vivante. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, 183, pp. 82-83.
- 213 — NADSON (G. A.) et MEISL (M. N.). — Le mécanisme d'action du chloroforme sur le protoplasme, le noyau et le chondriome des cellules d'*Allium Cepa*. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, 183, pp. 150-152.
- 214 — NADSON (G. A.) et ROCHLIN (E. J.). — L'effet des rayons X sur le protoplasme, le noyau et le chondriome de la cellule végétale d'après les observations sur le vivant. *Protoplasma*, 1934, 20, pp. 31-41.
- 215 — NEBEL (B. R.) et RUTTLE (M. L.). — The cytological and genetical significance of colchicine. *Journ. of Heredity*, 1938, 29, pp. 2-9, cité d'après GAVAUDAN et KOBOZIEFF in *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, pp. 790-793.
- 216 — NEMEC (B.). — Ueber die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. *Jahrb. f. wissenschaft. Botan.*, 1904, 39, pp. 645-730.

- 217 — NIINA (T.). — Ueber den Einfluss des elektrischen Stromes auf die Permeabilität der Froschhaut. *Pflüger's Arch.*, 1924, **204**, pp. 332-351.
- 218 — NOEL (R.). — Sur l'origine des plastes albuminoïdes de la cellule animale. *C. R. Assoc. Anat.*, 1926, Liège, pp. 437-440.
- 219 — NOEL (R.) et PALLOT (G.). — Recherches sur le chondriome de la cellule hépatique des Mammifères. I. Le chondriome hépatique chez le Rat. *Bull. Histol. appl.*, 1933, n° 6, pp. 169-186.
- 220 — NOEL (R.) et PALLOT (G.). — Recherches histophysiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères. II. Le chondriome hépatique chez le Chat. *Bull. Histol. appl.*, 1934, n° 2, pp. 75-96.
- 221 — NOEL (R.) et PALLOT (G.). — Recherches histophysiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères. III. Sur la genèse mitochondriale des graisses intrahépatiques. *Bull. Histol. appl.*, 1934, n° 3, pp. 115-120.
- 222 — ORSOS (O.). — Untersuchungen über die sogenannten Nekro-hormone. *Protoplasma*, 1936, **26**, pp. 351-371.
- 223 — OVERBEEK (J. van). — Auxin distribution in seedlings and its bearing on the problem of bud inhibition. *The Botan. Gaz.*, 1938, **100**, pp. 133-166.
- 224 — OVERBEEK (J. van). — Is auxin produced in roots? *Proceed. of the Nat. Acad. of Sc.*, 1939, **25**, pp. 245-248.
- 225 — PARAT (M.). — Mise en évidence du chondriome et des lipoides cellulaires. *Bull. Hist. appl.*, 1926, **3**, pp. 222-223.
- 226 — PARAT (M.). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. Chondriome, vacuome (appareil de Golgi), enclaves, etc., pH, oxydases, peroxydases, rH de la cellule animale. *Arch. Anat. microsc.*, 1928, **24**, pp. 73-357, 6 planches et 53 figures. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1928.
- 227 — PEKAREK (J.). — Die Lokalisation des Silbernitratreduktors in den Chloroplasten. *Protoplasma*, 1938, **30**, pp. 534-545.
- 228 — PENZA (A.). — Les questions les plus discutées sur le cytoplasme des végétaux. *C. R. Assoc. Anat.*, 1925, Turin, pp. 21-60.
- 229 — PFEIFFER (H. H.). — Beugungspolarisatorische Messungen an isotonisch und an isometrisch kontrahierten Insektenmuskeln. *Protoplasma*, 1942, **36**, pp. 444-449.
- 230 — PICKEN (L. E. R.). — The fine structure of biological systems. *Biologic. Reviews*, 1940, **15**, pp. 133-167.
- 231 — PICON (M.) et MANGEOT (A.). — Mesures relatives simples des tensions superficielles par un tube capillaire. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **212**, pp. 189-191.
- 232 — POLICARD (A.) et REGAUD (Cl.). — Sur la signification de la rétention du chrome, en technique histologique, au point de vue des lipides et des mitochondries. II. Résultats et conclusions. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **74**, pp. 558-560.

- 233 — RAMSDEN (W.). — Separation of solids in the surface layers of solutions and suspensions (observation on surface-membranes, bubbles, emulsions) and mechanical coagulation. Preliminary account. *Proceed. Roy. Soc.*, 1904, **72**, pp. 156-164.
- 234 — REGAUD (Cl.). — Caractères histologiques généraux des enclaves lipoides ne réduisant pas l'acide osmique. *C. R. Soc. Biol.*, 1908, **65**, pp. 436-438.
- 235 — REGAUD (Cl.). — Sur les mitochondries de l'épithélium séminal. IV. Faits et hypothèses relatifs à leur constitution. *C. R. Soc. Biol.*, 1908, **65**, pp. 718-720.
- 236 — REGAUD (Cl.). — Etudes sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les Mammifères. *Arch. Anat. Microsc.*, 1910, **11**, pp. 291-431.
- 237 — REGAUD (Cl.). et POLICARD (A.). — Sur la signification de la rétention du chrome par les tissus en technique histologique, au point de vue des lipoides et des mitochondries. I. Fixation morphologique et fixation de « substances ». *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **74**, pp. 449-451.
- 238 — RUGE (U.). — Zur Physiologie der gemeinen keimungshemmenden und keimunsbeschleunigenden Stoffe von *Helianthus annuus*. *Zeitschr. f. Bot.*, 1938-1939, **33**, pp. 529-571.
- 239 — SAIAS (E.). — Sur quelques propriétés des films mixtes lipoprotéiques formés à partir de sérum-albumine. *C. R. Ac. Sc.*, 1942, **214**, pp. 393-395.
- 240 — SAVELLI (R.). — Remarques optiques sur les plastes. *Protoplasma*, 1937, **28**, pp. 365-380.
- 241 — SCHMIDT (W. J.). — Neuere polarisationsoptische Arbeiten auf dem Gebiete der Biologie. *Protoplasma*, 1940, **34**, pp. 236-313.
- 242 — SCHMIDT (W. J.). — Die Doppelbrechung des Protoplasmas und ihre Bedeutung für die Erforschung seines submikroskopischen Baues. *Ergebn. der Physiologie*, 1941, **44**, pp. 27-95.
- 243 — SCHMIDT (W. J.). — Neuere polarisationsoptische Arbeiten auf dem Gebiete der Biologie. *Protoplasma*, 1942, **37**, pp. 86-153.
- 244 — SIMONET (M.) et GUINOCHET (M.). — Obtention, par les α monochloronaphtalène et α monobromonaphtalène, d'effets comparables à ceux exercés, sur les caryocinèses végétales, par la colchicine. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, **208**, pp. 1427-1428.
- 245 — SIMONET (M.) et GUINOCHET (M.). — Comparaison de l'action sur le Blé et le Lin de diverses substances provoquant des anomalies de la caryocinèse. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, **208**, pp. 1667-1669.
- 246 — SIMONET (M.) et GUINOCHET (M.). — Anomalies morphologiques et caryologiques provoquées, sur les jeunes plantules, par les dérivés halogénés des carbures cycliques. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, pp. 222-224.
- 247 — SNOW (R.). — Activation of cambial growth by pure hormones. *Nature*, 1935, **135**, p. 876.

- 248 — SNOW (R.). — Activation of cambial growth by pure hormones. *New Phytologist*, 1935, **34**, pp. 347-360.
- 249 — TAYEAU (F.). — Comparaison de l'action des divers savons sur le sérum sanguin en présence d'éther. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, pp. 1027-1029.
- 250 — TAYEAU (F.). — Sur l'état du cholestérol dans le sérum sanguin. Destruction des cénapses cholestéroprotéidiques par les saponosides. *C. R. Ac. Sc.*, 1941, **212**, pp. 575-576.
- 251 — TAYEAU (F.). — Destruction des cénapses cholestéroprotéidiques du sérum sanguin par les sels biliaires. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, p. 239.
- 252 — THIMANN (K. V.). — Hormones and the analysis of growth. *Plant Physiology*, 1938, **13**, pp. 437-449.
- 253 — TIMM (E.). — Vergleichende Untersuchung der Proteine in den Chloroplasten und im Cytoplasma des Spinatblattes. *Zeitschr. f. Botan.*, 1942, **38**, pp. 1-25.
- 254 — TURCHINI (J.). — Hétérogénéité chromosomienne et historadiographie. Observations sur les noyaux des glandes salivaires de Chironome. *Bull. Ac. Sc. et Lett. de Montpellier*, 1941, **71**, pp. 87-88.
- 255 — TURCHINI (J.). — Un nouveau moyen d'investigation physique appliqué à l'histologie : la radiographie histologique. *Schweizer. Zeitschr. f. Pathol. u. Bakteriolog.*, 1942, **5**, fasc. 3-4, pp. 137-149.
- 256 — TURCHINI (J.), CASTEL (P.) et KHAU VAN KIEN. — Une nouvelle coloration nucléaire. Coloration cytologique des noyaux par une fluorone. *C. R. Soc. Sc. médic. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerran.*, in *Montpellier Médical*, 1943, 3^e série, **23-24**, pp. 440-441.
- 257 — TURCHINI (J.), CASTEL (P.) et KHAU VAN KIEN. — De quelques colorations nucléaires par des fluorones et leur rapprochement avec la réaction nucléale de Feulgen pour la distinction des acides thymiques et zymonucléiques. *C. R. Soc. Sc. médic. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerran.*, in *Montpellier Médical*, 1943, 3^e série, **23-24**, pp. 599-600.
- 258 — TURCHINI (J.) et MEITÈS (M.). — Mécanisme histophysiologique du déclenchement sécrétoire dans le foie : action de l'hypotonie sur le chondriome et sur l'appareil de Golgi hépatiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, pp. 510-512.
- 259 — ULRICH (R.). — Les réactions des végétaux supérieurs aux excitations traumatiques. *Rev. Scientif.*, 1941, n^o 5-6, pp. 293-301.
- 260 — UNGER (R.). — Ueber physikalisch-chemische Eigenschaften des isolierten Froschrückenmarks und seiner Gefässhaut. *Biochem. Zeitschr.*, 1917, **80**, pp. 364-385.
- 261 — VERNE (J.) et VILTER (V.). — Etude de l'action de la colchicine sur les mitoses des fibroblastes cultivés in vitro. Concentrations dites fortes, *C. R. Soc. Biol.*, 1940, **133**, pp. 618-621.

- 262 — VILLARS (Mlle R.). — Etude cytologique de l'action du thymol sur les cellules végétales. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, **133**, pp. 206-208.
- 263 — WADA (B.). — Experimentelle Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. I. Die Einwirkung des Chloroform- und Aetherdampfes auf die Mitose bei *Tradescantia*-Haarzellen. *Cytologia*, 1938, **9**, pp. 97-109.
- 264 — WADA (B.). — Experimentelle Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. III. Die Einwirkung der Dämpfe verschiedener Substanzen auf die Mitose bei der *Tradescantia*-Haarzellen. *Cytologia*, 1939, **9**, pp. 460-479, cité d'après *Protoplasma*, 1940, **34**, p. 630, et d'après MANGENOT in *Rev. Cytol. et Cytoph. végét.*, 1941, t. V, pp. 169-264.
- 265 — WALTER (H.). — Ein Betrag zur Frage der chemischen Konstitution des Protoplasmas. *Biochem. Zeitschr.*, 1921, **122**, pp. 86-99.
- 266 — WEBER (F.). — Plasmolyseform und Aetherwirkung. *Pflüger's Arch.*, 1925, **208**, pp. 705-717.
- 267 — WEBER (F.). — Plasmolyseresistenz und Permeabilität bei Narkose. *Protoplasma*, 1932, **14**, pp. 179-191.
- 268 — WEBER (F.). — Plasmolyse und «surface precipitation reaction». *Protoplasma*, 1932, **15**, pp. 522-531.
- 269 — WEBER (F.). — Unterschiede in der Säureresistenz der *Helodea*-Blattzellen. *Protoplasma*, 1932, **16**, pp. 287-290.
- 270 — WEBER (F.). — Myelinfiguren und Sphärolithe aus *Spirogyra*-Chloroplasten. *Protoplasma*, 1933, **19**, pp. 455-462.
- 271 — WEIER (E.). — Viability of cells containing chloroplasts with an optically homogeneous or granular structure. *Protoplasma*, 1938, **31**, pp. 346-350.
- 272 — WEIER (E.). — The microscopic appearance of the chloroplast. *Protoplasma*, 1939, **32**, pp. 145-152.
- 273 — WINTERSTEIN (H.). — Beiträge zur Kenntnis der Narkose. IV. Mitteilung. Narkose und Permeabilität. *Biochem. Zeitschr.*, 1916, **75**, pp. 71-100.
- 274 — WINTERSTEIN (H.) et HIRSCHBERG (E.). — Neue Versuche über den Stickstoffumsatz in den Nervenzentren. *Biochem. Zeitschr.*, 1926, **167**, pp. 402-410.
- 275 — ZIMMERMANN (P. W.), CROCKER (W.) et HITCHCOCK (A. E.). — The effect of carbon monoxide on plants. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 1933, **5**, pp. 195-211.
- 276 — ZIMMERMANN (P. W.), et HITCHCOCK (A. E.). — The response of roots to the root-forming substances. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 1935, **7**.
- 277 — ZIMMERMANN (P. W.) et WILCOXON (F.). — Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 1935, **7**, pp. 209-225.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Méristème racinaire de *Lupinus albus* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Cellule normale du plérome.
- b* — Cellule normale du périblème.
- c* — Action de l'eau pure (1 heure à 1 h. 30). Cellule axiale du plérome méristématique : cytoplasme vacuolisé, grains sidérophiles intravacuolaires, vésicules mitochondriales ⁽¹⁾.

PLANCHE II

Action de l'eau benzinée saturée (1 heure à 1 h. 30) sur le méristème racinaire de *Lupinus albus* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Aspect granuleux du cytoplasme; granulisation des chondriôcontes; agglutination de quelques grains en sphérules (cellule du plérome).
- b* — Les plantules ont été replacées sur leur milieu habituel; fixation effectuée après 48 heures de « retour » ⁽²⁾: plasmolyse, agglutination péri-nucléaire des sphérules mitochondriales (cellule du plérome).
- c* — Cellule du périblème après 48 heures de « retour ».

PLANCHE III

Action de l'eau benzinée saturée (1 heure à 1 h. 30) sur l'extrémité racinaire de *Lupinus albus* L. (fixation de Flemming, coloration par la safranine).

- a* — Témoin (cellule du plérome).
- b* — Cellule « benzinée » du plérome méristématique : osmio-réduction discrète.
- c* — Cellule « benzinée » du plérome sous-méristématique (page 23) : nombreux grains d'osmium réduit.

⁽¹⁾ Il nous paraît utile de préciser que ces vésicules ne peuvent être confondues avec les plastes, éléments figurés normaux (d'ailleurs fort peu nombreux) de la cellule méristématique du Lupin (Planche I, fig. *a* et *b*) : les dimensions des vésicules sont plus grandes et leur contour est beaucoup plus épais.

⁽²⁾ Rappelons que nous désignons sous le nom de « retour » le fait de replacer les plantules sur leur milieu de culture habituel.

PLANCHE IV

Action de l'eau benzinée saturée sur le méristème racinaire de *Lupinus albus* L. (fixation de Flemming).

- a* — Coloration témoin par la méthode de Feulgen (la teinte rouge des prochromosomes a été figurée en gris).
- b* — Pycnose benzénique (coloration de Feulgen) : les prochromosomes et le nucléole restent reconnaissables.
- c* — Coloration témoin par l'hématoxyline ferrique.
- d* — Pycnose benzénique (coloration par l'hématoxyline ferrique, très régressée).

PLANCHE V

Action de l'eau benzinée saturée *dédoublée* (1 heure à 1 h. 30) sur le méristème racinaire de *Lupinus albus* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Granulisation du chondriome (cellule du plérome).
- b* et *c* — Les plantules ont été replacées sur leur milieu habituel; fixations effectuées après 24 heures de « retour » (cellules du plérome) :
 1^{er} type : fig. *b*; les altérations s'accroissent (dispersion des grains des chondriomites).
 2^e type : fig. *c*; les altérations s'atténuent, les chondriomites se reforment (chapelets moniliformes dont les grains sont reliés par un fin tractus sidérophile).

PLANCHE VI

Action de l'eau benzinée saturée *dédoublée* sur la racine de *Lupinus albus* L. : hyperplasie cellulaire aux abords d'un foyer de nécrose subterminal (cf. page 34).

Microphotographie 1 (grossissement 150). — En *c*, différenciation des couches corticales profondes.

Microphotographie 2 (grossissement 1200). — Cellules binucléées.

PLANCHE VII

Action de l'eau benzinée saturée *diluée au quart* (1 heure à 1 h. 30) sur le méristème racinaire de *Lupinus albus* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Cellule du plérome : présence de vésicules (action de l'eau) et de chondriomites (action du benzène).
- b* — Cellule du périlème : granulisation benzénique typique,

PLANCHE VIII

Délipidation benzénique postformolée (48 heures) effectuée sur le méristème racinaire de *Lupinus albus* L.

- a* — Témoin fixé par la technique de Dietrich-Parat classique (cellule du plérome).
- b* — Cellule du plérome délipidée : le chondriome est intact.

PLANCHE IX

Méristème racinaire d'*Allium sativum* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Cellule normale du plérome.
- b* — Cellule normale du périlème.

PLANCHE X

Action de l'eau benzinée saturée (1 heure) sur le méristème racinaire d'*Allium sativum* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Cytoplasme granuleux; granulisation des chondriocontes; quelques sphérules résultant de l'agglutination des grains.
- b* et *c* — Les plantules ont été replacées sur leur milieu habituel et fixées à la 48^e heure : stade sphérulaire irréversible (fig. *b*, cellule du plérome : agglutination périnucléaire des sphérules).

PLANCHE XI

Action de l'eau benzinée saturée (1 heure) sur l'extrémité racinaire d'*Allium sativum* L. (fixation de Flemming, coloration par la safranine).

- a* — Témoin (cellule du plérome).
- b* — Cellule « benzinée » du plérome méristématique : osmioréduction discrète.
- c* — Cellule « benzinée » du périlème, méristématique : osmioréduction discrète.
- d* — Cellule benzinée du plérome sous-méristématique (page 56) : osmioréduction intense.

PLANCHE XII

Etude caryologique du méristème racinaire d'*Allium sativum* L. (fixation de Flemming, coloration d'Heidenhain).

- a* — Noyau quiescent normal.
- b* — Action pycnotique de l'eau benzinée saturée (1 heure).

- c* — Métaphase normale : vue longitudinale.
- d* — Métaphase normale : vue oblique.
- e* — Stathmométaphase induite par l'eau benzinée saturée (durée d'action, 1 heure).
- f* — Anaphase normale.
- g* — Anaphase aberrante, avec ponts chromosomiques, induite par l'eau benzinée saturée (durée d'action, 1 heure).

PLANCHE XIII

Action de l'eau benzinée saturée *dédoublée* (1 heure) sur le méristème racinaire d'*Allium sativum* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Vacuolisation « benzénique » (page 60); granulisation des chondriocotes (cellule du plérome).
- b* — « Retour » de 48 heures : reconstitution des chondriocotes (cellule du plérome).

PLANCHE XIV

Action mitoclasique de l'eau benzinée saturée *dédoublée* sur le méristème racinaire d'*Allium sativum* L. (1 heure) (fixation de Flemming, coloration d'Heidenhain).

- a* — Stathmométaphase fruste.
- b* — Anaphase tripolaire avec ponts chromosomiques.
- c* — Stathmométaphase; agglutination des chromosomes en masses hyperchromatiques.
- d* — Télophase anormale avec ponts chromosomiques.

PLANCHE XV

Action de l'eau benzinée saturée *diluée au quart* (1 heure) sur le méristème racinaire d'*Allium sativum* L. (fixation et coloration de Regaud).

- a* — Granulisation des chondriocotes (cellule du plérome).
- b* — « Retour » de 48 heures; reconstitution des chondriocotes : quelques chapelets moniliformes (forme de transition très fugace) et nombreux filaments typiques.

PLANCHE XVI

Délipidation benzénique postformolée effectuée sur le méristème racinaire d'*Allium sativum* L.

- a* — Délipidation de courte durée (1 heure 30) par l'eau benzinée saturée : cytoplasme et chondriome normaux (cellule du plérome).

b et *c* — Délipidation de longue durée (48 à 72 heures) par l'eau benzinée alcoolisée (cellules du plérome) :

1^{er} type : fig. *b* (cytoplasme vacuolisé, chondriome normal).

2^e type : fig. *c* (cytoplasme vacuolisé, chondriome détruit).

PLANCHE XVII

Stimulation des racinelles par décapitation du méristème racinaire (*Lupinus albus* L.).

a — Plantule témoin.

b — Plantule décapitée.

PLANCHES XVIII, XIX, XX, XXI, XXII

Action de l'eau benzinée (saturée, dédoublée, diluée au quart) sur la morphologie et le développement de *Lupinus albus* L.

Quatre lots de plantules (âgées de 5 jours) ont été respectivement immergés pendant 1 h. 30 :

lot *a* (témoin T) dans l'eau de source.

lot *b* (B. sat.) dans l'eau benzinée saturée;

lot *c* (B/2) dans l'eau benzinée saturée dédoublée;

lot *d* (B/4) dans l'eau benzinée saturée diluée au quart.

Les plantules sont ensuite lavées à l'eau de source et placées séparément dans des tubes à essais contenant une dilution au demi de la solution nutritive de Shive (l'hypocotyle et la racicule baignant seuls dans le liquide). Un type moyen, prélevé dans chacun des lots *a*, *b*, *c*, *d*, a été photographié après 8 jours, 16 jours, et 28 jours de culture.

Planche XVIII : 8^e jour de culture. — La racine *b* (eau benzinée saturée) est nécrotique; dans les plantules *c* (eau benzinée dédoublée) et *d* (eau benzinée diluée au quart), la production des racinelles a été stimulée par rapport au témoin *a*.

Planche XIX : 16^e jour de culture. — La racine *c* (eau benzinée dédoublée) a acquis le type fasciculé.

Planche XX : 28^e jour de culture. — Noter l'aspect monstrueux et la répartition anarchique des racinelles au niveau du collet de la plantule *b* (eau benzinée saturée).

Planche XXI : Aspect d'ensemble après 16 jours de culture.

Planche XXII : Aspect d'ensemble après 1 mois de culture.

PLANCHE XXIII

Action de l'eau benzinée saturée *dédoublée* (1 heure) sur le développement de la radicule de *Lupinus albus* L. (Retour de 9 jours sur milieu aérien humide).

Cas N° 1. — Nécrose du méristème et de la zone subterminale.

Cas N° 2, *a.* — Seule la zone subterminale (indiquée par la flèche) est nécrotique; le méristème est un peu tuméfié et n'a pas proliféré.

Cas N° 2, *b.* — Variante du cas précédent : le méristème, ayant proliféré, s'est peu à peu éloigné de la zone nécrotique subterminale (indiquée par la flèche).

PLANCHE XXIV

Culture des racines de *Lupinus albus* L. en présence de faibles quantités de benzène.

a — Plantule témoin, âgée de 11 jours, cultivée sur milieu de Shive dilué au demi.

b et *c* — Plantules de même âge ayant séjourné, du 8^e au 11^e jour, dans le milieu de Shive dilué au demi et benziné au quart de saturation (fig. *b*), ou au 1/8 de saturation (fig. *c*) : toute la radicule, sauf la pointe méristématique, est tuméfiée.

ETUDE CYTO-PHYSIOLOGIQUE DU MERISTEME
RADICULAIRE DE LUPINUS ALBUS

CYTOPLASME ET CHONDRIOME
Fixation et Coloration de Regaud

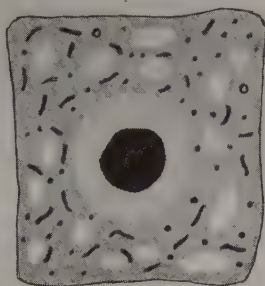
CELLULES NORMALES DE LA ZONE MÉRISTÉMATIQUE
(Fixations effectuées après 6 jours de germination)

Cellule du Plerome

Cellule du Périlème



a

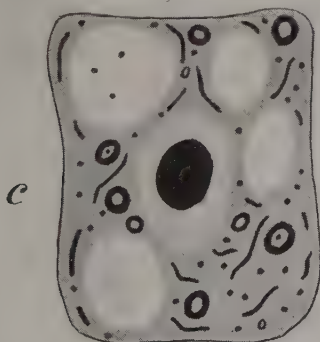


b

ACTION DE L'EAU DE SOURCE SEULE
(Plantules plongées dans l'eau pendant 1 heure à 1 h.30)

*Au sortir immédiat
de l'eau*

Cellule du Plerome



c

10 μ

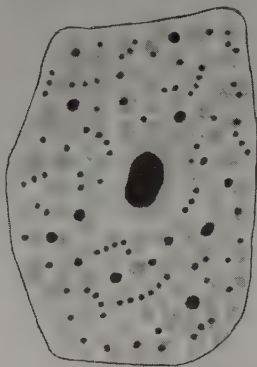
Lupinus albus L.

CYTOPLASME ET CHONDRIOME (Suite)

ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE
(Plantules plongées dans ce réactif pendant 1 heure à 1 h. 30)

Au sortir immédiat du réactif

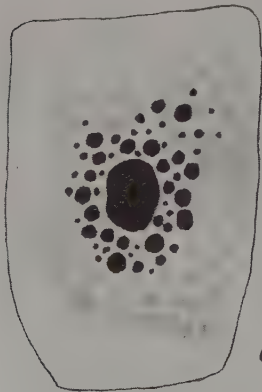
Cellule du Périome



a

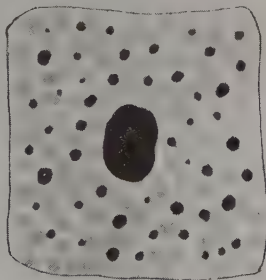
Après 48 heures de retour sur milieu normal

Cellule du Périome



b

Cellule du Périblème



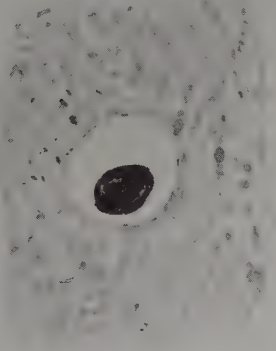
c

10µ

DEMASQUAGE DES LIPIDES
PAR L'EAU BENZINÉE SATURÉE
(LUPINUS ALBUS)

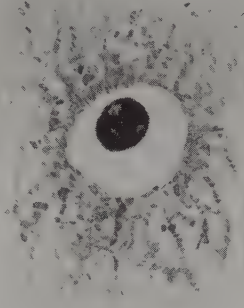
Fixation au Flemming - Coloration à la safranine

témoin
(plérôme méristématique)



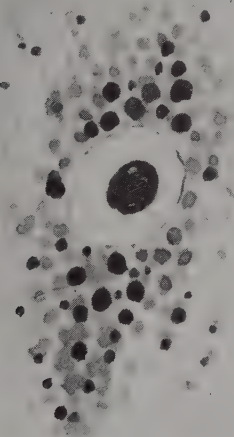
a

eau benzinée saturée
(plérôme méristématique)



b

eau benzinée saturée
(plérôme sous-méristématique)



c

10 μ

Lupinus albus L.

NOYAU

1: Fixation au Flemming - Réaction de Feulgen

Noyau quiescent
normal



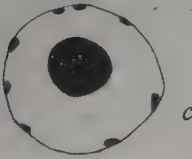
Noyau quiescent
au sortir de l'eau benzinée
saturée



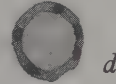
N.B. Les teintes grises sont censées représenter les colorations rouges plus ou moins intenses données par le réactif fuchsin-sulfurique

2: Fixation au Flemming - Coloration d'Heidenhain

Noyau quiescent
normal



Noyau quiescent
au sortir de l'eau benzinée
saturée



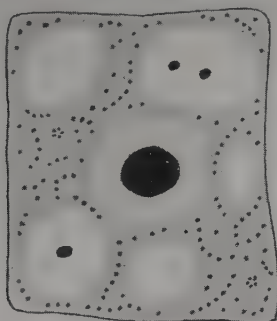
Lupinus albus L.

CYTOPLASME ET CHONDRIOME (Suite)

ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE DÉDOUBLÉE
(Plantules plongées dans ce réactif pendant 1 heure à 1 h. 30)

Au sortir immédiat du réactif

Cellule du Plerome

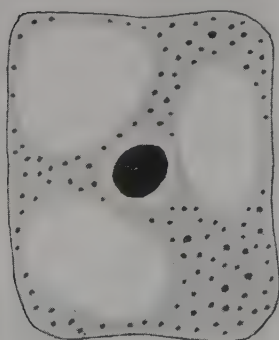


a

Après 24 heures de retour sur milieu normal

1^{er} Cas

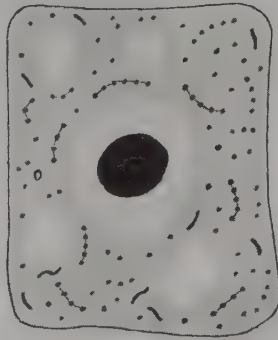
Cellule du Plerome



b

2^e Cas

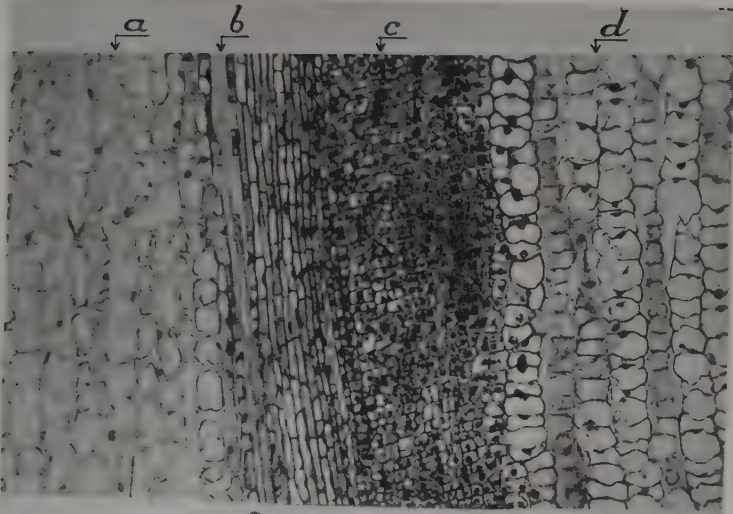
Cellule du Plerome



c

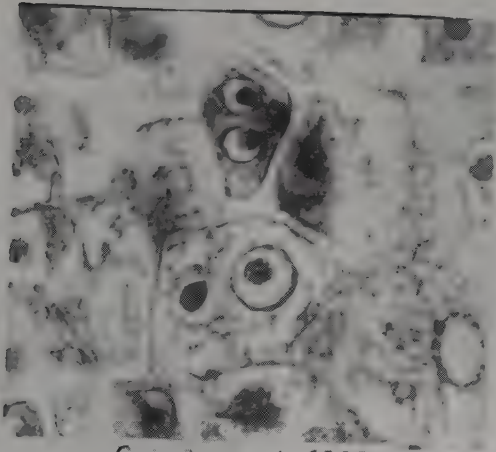
10 μ

Lupinus albus L.



Grossissement 150 x

Microphoto 1



Grossissement 1200 x

Microphoto 2

Lupinus albus L.

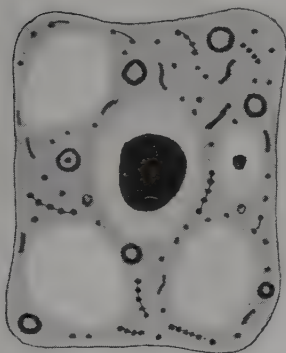
CYTOPLASME ET CHONDRIOME (Suite)

ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE DILUÉE AU QUART
(Plantules plongées dans ce réactif pendant 1 heure à 1 h.30)

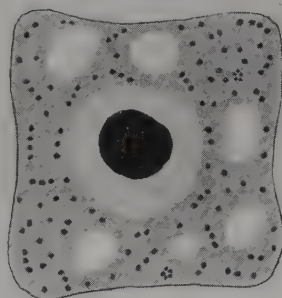
Au sortir immédiat du réactif

Cellule du Plerome

Cellule du Périlème



a



b

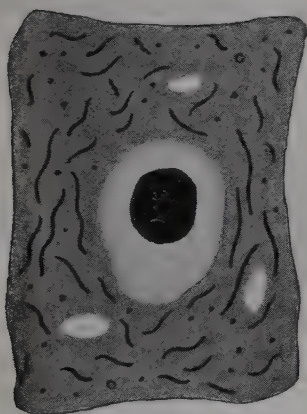
10μ

TRAITEMENT DE LA CELLULE FORMOLEE
PAR L'EAU BENZINEE ALCOOLISEE

LUPINUS ALBUS

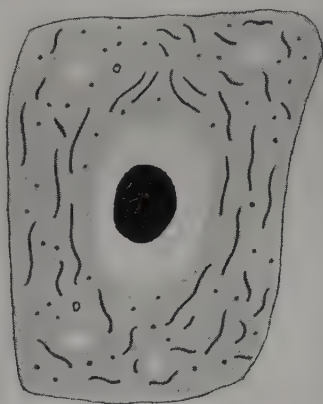
Cytoplasme et Chondriome du méristème radicaire

*Technique de Dietrich-Parat
classique
Cellule du Plérôme*



a

*Technique de Dietrich-Parat
modifiée par délipidation
Cellule du Plérôme*



b

10μ

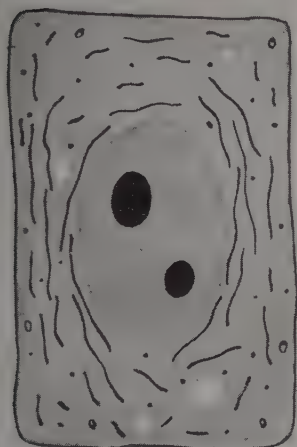
ETUDE CYTO - PHYSIOLOGIQUE DU MERISTEME
RADICULAIRE D'ALLIUM SATIVUM

CYTOPLASME ET CHONDRIOME
Fixation et coloration de Regaud

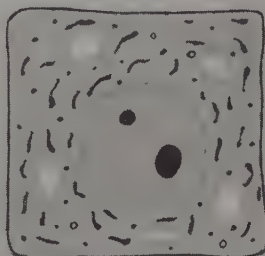
CELLULES **NORMALES** DE LA ZONE MÉRISTÉMATIQUE

Cellule du Plérôme

Cellule du Périblème



a



b

10 μ

Allium sativum L.

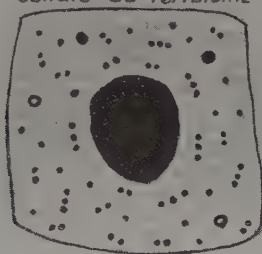
CYTOPLASME ET CHONDRIOME (Suite)

Fixation et coloration de Regaud

ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE
(Racines plongées dans ce réactif pendant 1 heure)

Au sortir immédiat du réactif

Cellule du Périclème

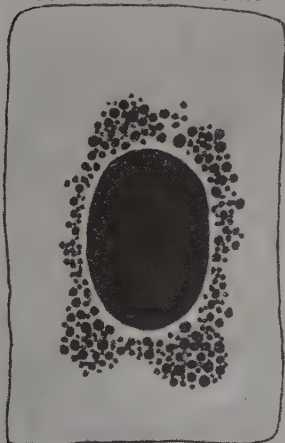


a

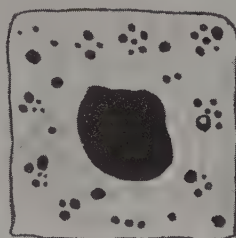
Après 24 heures de retour sur milieu normal

Cellule du Plérôme

Cellule du Périclème



b



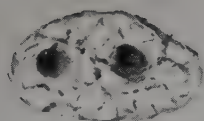
c

10 μ

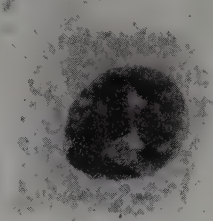
DEMASQUAGE DES LIPIDES
PAR L'EAU BENZINÉE SATURÉE
ALLIUM SATIVUM

Fixation au Flemming - Coloration à la safranine

témoin *eau benzinée saturée*
(plérôme méristématique) (plérôme méristématique)



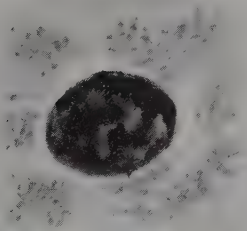
a



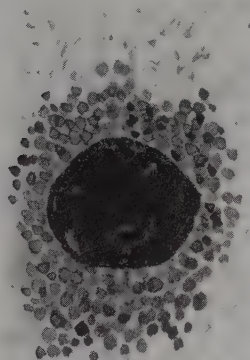
b

eau benzinée saturée
(plérôme **SOUS**-méristématique)

eau benzinée saturée
périblème
méristématique



c

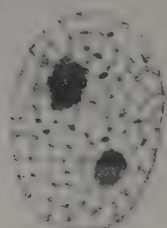


d

10 μ

**ACTION DE L'EAU BENZINEE SATUREE
SUR LES CINESES D'ALLIUM SATIVUM**

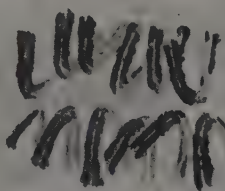
Fixation au Flemming - Coloration d'Heidenhain



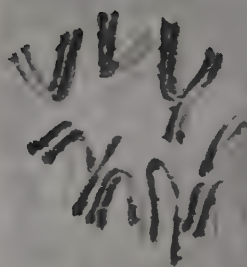
a



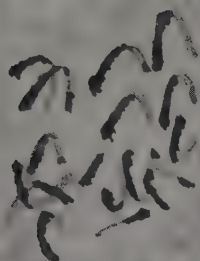
b



c



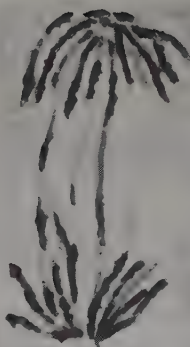
d



e



f



g

C. Bonfante del

10 μ

Allium sativum L.

CYTOPLASME ET CHONDRIOME (Suite)

Fixation et coloration de Regaud

ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE DÉDOUBLÉE
(Racines plongées dans ce réactif pendant 1 heure)

Au sortir immédiat
du réactif

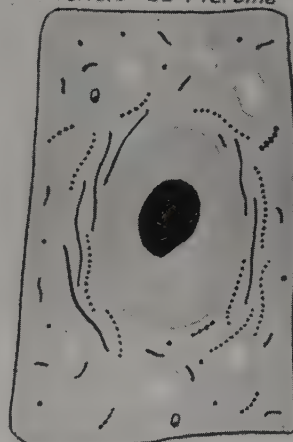
Cellule du Plérôme



a

Après 48 heures de retour
sur milieu normal

Cellule du Plérôme

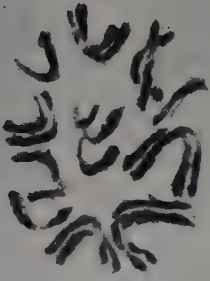


b

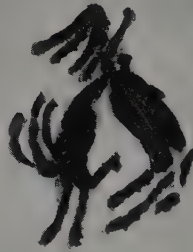
10 μ

**ACTION DE L'EAU BENZINEE DEDOUBLEE
SUR LES CINESES D'ALLIUM SATIVUM**

Fixation au Flemming - Coloration d'Heidenhain



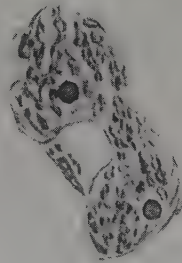
a



b



c



d

C. Bonhomme del.

10 μ

Allium sativum L.

CYTOPLASME ET CHONDRIOME (Suite)

Fixation et coloration de Regaud

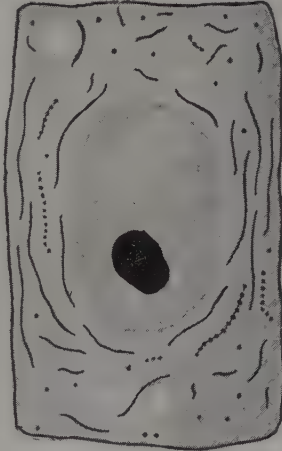
ACTION DE L'EAU BENZINÉE SATURÉE **DILUÉE AU QUART**
(Racines plongées dans ce réactif pendant 1 heure)

Au sortir immédiat
du réactif
Cellule du Plérome



a

Après 48 heures de retour
sur milieu normal
Cellule du Plérome



b

10 μ

TRAITEMENT DE LA CELLULE FORMOLEE PAR L'EAU BENZINEE ALCOOLISEE

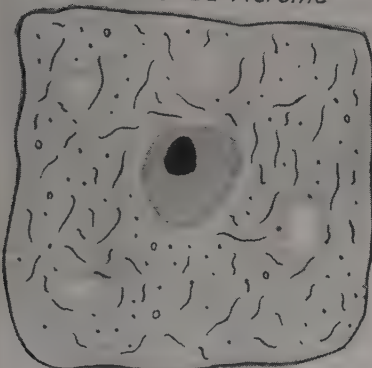
ALLIUM SATIVUM

Cytoplasme et Chondriome du méristème racinaire

Technique de Regaud modifiée par délipidation

Cellule du Plérome

Cellule du Plérome



a

Cytoplasme et Chondriome
normaux



b

Cytoplasma vacuolisé
Chondriome normal

Cellule du Plérome

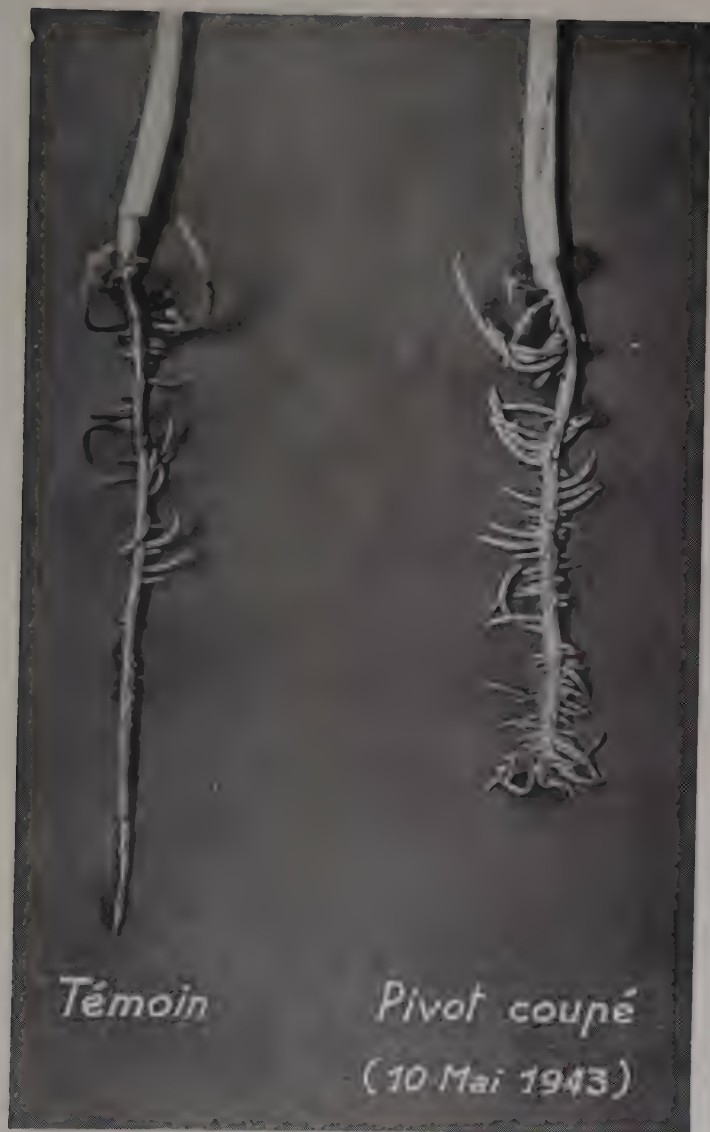


c

Cytoplasme vacuolisé
Chondriome détruit

10 μ

Lupinus albus L.



a

b

Lupinus albus L.



a

b

c

d

8^e jour de culture

Lupinus albus L.



a

b

c

d

16^e jour de culture

Lupinus albus L.



a

b

c

d

28^e jour de culture

Lupinus albus L.



a

b

c

d

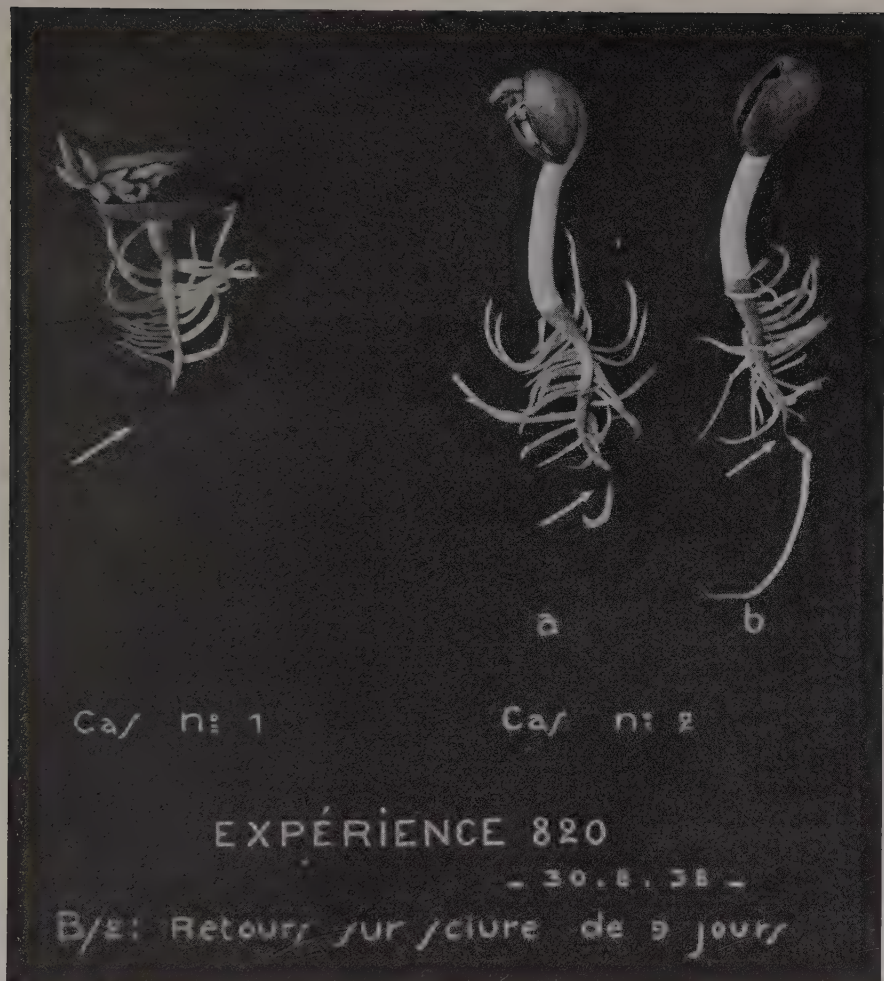
Aspect d'ensemble après 16 jours de culture



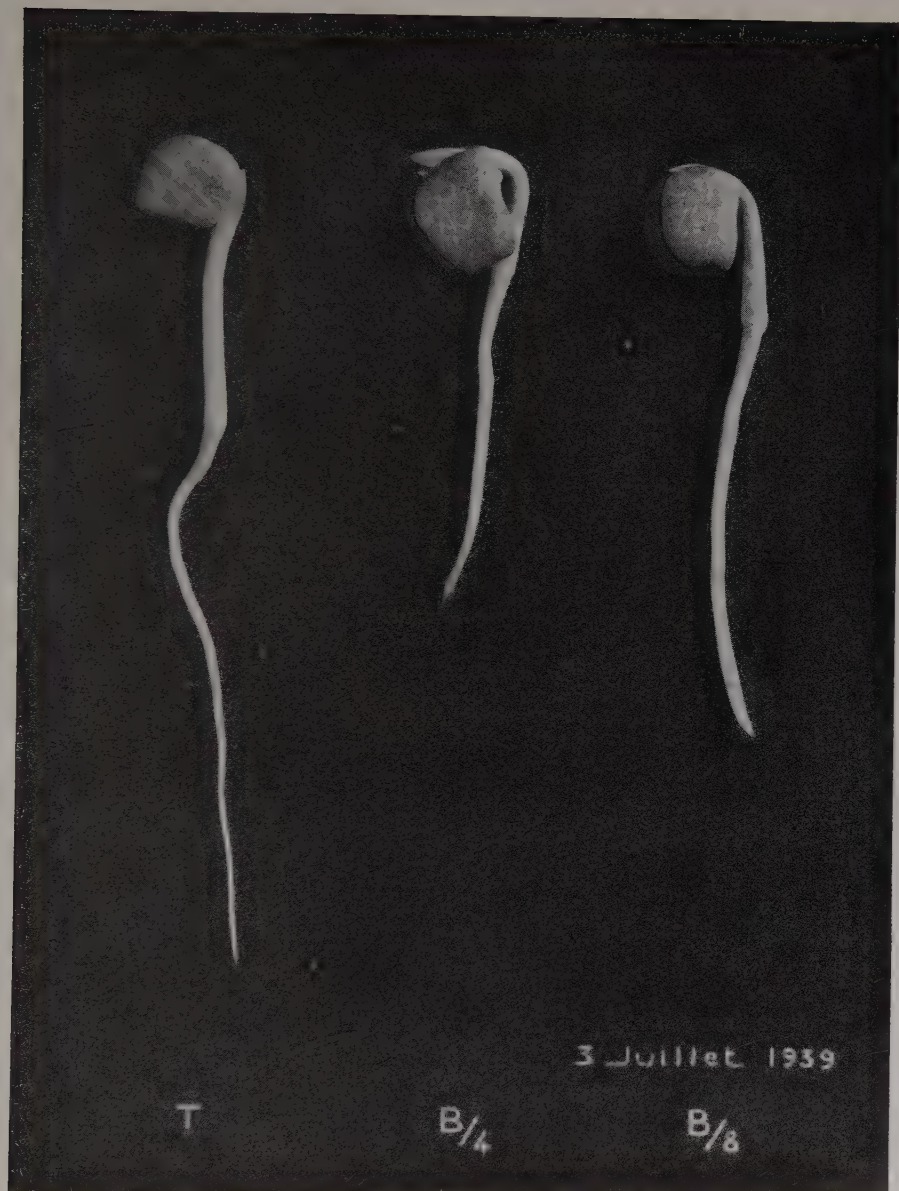
a b c d

Aspect d'ensemble après un mois de culture

Lupinus albus L.



Lupinus albus L.



a

b

c

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

1° Hormones génitales femelles

2° Corrélations hypophysaires

Vu et approuvé :

Montpellier, le 10 Juin 1944

pour le Doyen de la Faculté des Sciences

de Montpellier,

l'Assesseur

G. REBOUL.

Vu

et permis d'imprimer :

Montpellier, le 12 Juin 1944

Le Recteur de l'Académie,

BOUSSAGOL.

